

Modellierung und Simulation von bakterieller Adhäsion und intrazellulärem Transport in realer Geometrie

Dissertation

zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

von
Alexander Thewes

Saarbrücken
2019

Tag des Kolloquiums:	07.02.2020
Dekan:	Prof. Dr. Guido Kickelbick
Berichterstatter:	Prof. Dr. Ludger Santen Prof. Dr. Karin Jacobs
Vorsitz:	Prof. Dr. Albrecht Ott
Akad. Mitarbeiter:	Dr.-Ing. Andreas Tschöpe

Kurzzusammenfassung

In dieser Arbeit wurden zwei Themenkomplexe behandelt, die Entwicklung eines Modells für intrazellulären Transport in realer Geometrie und die Adhäsion von *Staphylococcus aureus* auf abiotischen Oberflächen. Beide Vorgänge sind von hoher Bedeutung im medizinischen Bereich.

Für das Transportmodell wurde aus Mikroskopieaufnahmen einer Zelle die Form der Zellmembran rekonstruiert und die erhaltene Oberfläche trianguliert. Kombiniert mit einem Modell des Zytoskeletts und einem Modell für molekulare Motoren liefert dieses System ein einfaches Modell einer Zelle mit dem fundamentale Prozesse wie Transportvorgänge oder die Bildung von Membranröhren untersucht werden können. Dieses System liefert damit einen Beitrag auf dem Weg zur Entwicklung eines vollständigen Zellmodells.

Die Adhäsion von *Staphylococcus aureus* wurde mittels eines kombinierten Ansatzes aus Experiment und Simulationen untersucht. Die Experimente bestanden aus AFM Kraftspektroskopie einzelner Bakterienproben. Basierend auf den Experimenten wurde ein vereinfachtes Modell der Adhäsion entwickelt und mit Hilfe von Monte Carlo Simulationen untersucht. Dieser Ansatz ermöglichte ein tieferes Verständnis des Adhäsionsprozesses. Die Anhaftung funktioniert über Proteine in der Membran des Bakteriums. Diese Proteine binden in großer Zahl an der Oberfläche, die Stärke und Reichweite der Bindung ist dabei von Parametern wie der Zahl der bindenden Proteine, der Tiefe und Reichweite des Oberflächenpotentials oder der Länge der Proteine abhängig.

Abstract

In this thesis, two subjects are treated, the development of a model for intracellular transport in a real geometry and the adhesion of *Staphylococcus aureus* on abiotic surfaces. Both processes are of high importance in the medical area.

The transport model is based on the reconstruction of the membran of a real cell using microscopy images. The received shape was triangulated und combined with a model of the cytoskeleton and a model for molecular motors. This gives a simplified model of a cell which can be used to analyze fundamental processes like transport or the formation of membran tubes. Thus, this system gives a contribution on the way to develop a full cell model.

The adhesion of *Staphylococcus aureus* was studied using a combined approach of experiments and simulations. The experiments consist of AFM force spectroscopy of single bacteria cells. Based on these experiments a simplified adhesion model was developed and analyzed using Monte Carlo simulations. This approach gave a deeper understanding of the adhesion process. The adhesion works via proteins anchored in the bacterial membrane. A large number of these proteins bind to the surface, the strenght and range of this binding depends on parameters such as the number of binding proteins, the depth and range of the surface binding potential and the size of the proteins.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Theoretischer Hintergrund	3
2.1	Stochastische Prozesse	3
2.2	Modellierung	5
2.2.1	Gittergase	5
2.2.2	Polymermodelle	11
2.2.3	Oberflächentriangulierung	18
2.2.4	Federnetzwerkmodelle	26
2.2.5	Curvature-Modell	27
2.3	Simulationstechniken	27
2.3.1	Monte-Carlo-Verfahren für Systeme im thermischen Gleichgewicht	28
2.3.2	Verfahren für Gittergase	29
2.3.3	Gillespie-Algorithmus	30
3	Biologischer Hintergrund	33
3.1	Intrazellulärer Transport	33
3.1.1	Mikrotubuli	33
3.1.2	Aktinfilamente	35
3.1.3	Molekulare Motoren	36
3.2	Adhäsion von Bakterien	37
3.2.1	Bakterien	37
3.2.2	Wirkende Kräfte	38
4	3D-Zellmodell	43
4.1	Sphärisches Modell	43
4.1.1	Mikrotubuli	44
4.1.2	Molekulare Motoren	49
4.1.3	Ergebnis	51
4.2	Rekonstruktion der Zellmembran	51
4.3	Statisches Modell in realer Geometrie	57
4.3.1	Ergebnisse	58
4.4	Dynamisches Modell in realer Geometrie	63
4.4.1	Federnetzwerkmodell	63
4.4.2	Curvature-Modell	67
4.5	Zusammenfassung	74

5	Adhäsion von Staphylococcus aureus auf hydrophoben Oberflächen	77
5.1	Experiment	77
5.1.1	Aufbau	77
5.1.2	Durchführung und Ergebnisse	78
5.2	Modelldefinition und Simulation	80
5.2.1	Cut-off Länge	85
5.2.2	Worm-Like Chain	86
5.3	Ergebnisse aus Experiment und Simulation	87
5.3.1	Verifikation	87
5.3.2	Lennard-Jones Potential	89
5.3.3	Freies System	90
5.3.4	Negativer Krafttrigger	92
5.3.5	Quervernetzung	94
5.3.6	Raue Oberflächen	96
5.3.7	Parameterabhängigkeit	104
5.3.8	Cut-off Länge	119
5.3.9	WLC-Modell	120
5.4	Zusammenfassung	123
6	Diskussion und Ausblick	125
A	Herleitung der Transformationsmatrizen 4.3 und 4.4	129
B	Übersicht der wichtigsten verwendeten Funktionen der GTS Library	133
C	Beschreibung der Videos auf der beiliegenden DVD	135
D	Herleitung von Gleichung 5.7	137
E	Gleichungen für raue Oberflächen	139
	Abbildungsverzeichnis	141
	Tabellenverzeichnis	147
	Literaturverzeichnis	149

Kapitel 1

Einleitung

Die Zelle ist der fundamentale Baustein menschlichen Lebens, gleichzeitig ist sie ein hoch komplexes Gebilde mit unzähligen Bestandteilen und Prozessen mit denen diese einzelnen Teile untereinander interagieren. Zusätzlich zu diesen intrazellulären Abläufen wechselwirken einzelne Zellen oder auch Zellgruppen miteinander und ermöglichen ein Zusammenspiel bzw. eine Wechselwirkung auch über größere Distanzen wodurch komplexe Lebensformen wie der Mensch überhaupt erst lebensfähig sind.

Für das Funktionieren und Überleben der Zelle essentiell wichtig sind Transportvorgänge innerhalb der Zelle. Diese Transportprozesse sorgen z.B. für die Verteilung von Nährstoffen, die Weiterleitung von externen Reizen oder die Aufnahme von Nanopartikeln. Andererseits stehen Störungen des zellulären Transportsystems im Zusammenhang mit einer Reihe von Krankheiten wie Alzheimer. Das Verstehen der Intoxikation von Giftstoffen ist ebenfalls eng verbunden mit einem Verständnis des intrazellulären Transports.

Ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu diesem tieferen Verständnis ist die Entwicklung von Modellen anhand derer die dem Transport zu Grunde liegenden Prozesse verstanden werden können. Die einfachsten Modelle beschreiben dabei nur einen der beteiligten Prozesse wobei die Komplexität durch Berücksichtigung weiterer Elemente gesteigert werden kann. Das bei weitem noch nicht erreichte Ziel dieser Anstrengungen ist die Entwicklung eines vollständigen Zellmodells, das alle relevanten Zellprozesse abbildet und somit ein tieferes Verstehen der Zelle ermöglicht.

Diese Arbeit möchte auf dem Weg zu diesem Ziel einen Beitrag leisten. Dafür wurde die Form einer Zelle aus Mikrokopieaufnahmen rekonstruiert und die Membran explizit mit Hilfe einer Triangulierung modelliert. Die so entwickelte Membran wurde mit einem Modell für intrazellulären Transport bestehend aus Zytoskelett und Motorproteinen kombiniert. Neben Transportvorgängen und Intoxikationsprozessen kann mit diesem dreidimensionalen Zellmodell auch die Interaktion des Zytoskeletts mit der Zellmembran untersucht werden die bei der Entstehung von Membranröhren eine wichtige Rolle spielt. Das entwickelte Modell kann durch Anpassungen und Erweiterungen leicht zur Untersuchung weiterer Vorgänge verwendet werden und als Ausgangsbasis für ein weitergehendes, tieferes Verständnis der Zelle und ihrer Eigenschaften dienen.

Das zweite in dieser Arbeit behandelte Thema ist die Adhäsion des Bakteriums *Staphylococcus aureus* auf abiotischen Oberflächen. Bakterielle Infektionen sind ein ernstes

Problem für die Gesundheit der Menschen, welches durch die zunehmenden Resistenzen einiger Bakterien gegenüber vielen Antibiotika zusätzlich verschärft wird. In Krankenhäusern und Gemeinschaftseinrichtungen wie Kindergärten oder Schulen verbreiten sich solche Infektionen häufig über bakterielle Biofilme auf Oberflächen. Die Anhaftung von einzelnen Bakterien ist dabei einer der ersten Schritte bei der Bildung dieser Filme. Eine Idee zum Schutz vor bakteriellen Biofilmen ist es daher, die Anhaftung von Bakterien auf der Oberfläche zu verhindern und so die Entstehung des Biofilms schon am Beginn zu unterbinden etwa durch spezielle Beschichtungen. Der Mechanismus der Anhaftung ist allerdings ein äußerst komplexer Prozess der zudem nur mangelhaft verstanden ist. Um hier ein tieferes Verständnis zu erhalten ist ein vereinfachtes System bzw. Modell notwendig, das einen Einblick in die Basisprozesse der Adhäsion liefert. Zu diesem Zweck wurden in einer Kooperation zwischen experimenteller und theoretischer Physik experimentelle und theoretische Ansätze kombiniert. Im Experiment wurde die Adhäsion von einzelnen Bakterien auf kontrollierten Oberflächen mit Hilfe von AFM Kraftspektroskopie untersucht, die detaillierten Ergebnisse dieser Experimente finden sich in [155]. In dieser Arbeit wird ein einfaches theoretisches Modell des experimentellen Systems entwickelt, mittels Computersimulation analysiert und die Ergebnisse mit den experimentellen Resultaten verglichen. Durch diesen kombinierten Ansatz und den gegenseitigen Input von Experiment und Modell konnte ein neuer, tieferer Einblick in den Mechanismus der Adhäsion gewonnen werden.

Aufgebaut ist die Arbeit wie folgt. In Kapitel 2 gibt es eine Einführung in den theoretisch-physikalischen Hintergrund, der zum Verständnis der Arbeit notwendig ist. Kapitel 3 gibt einen Überblick über die Biologie von intrazellulärem Transport und von Bakterien. Schließlich werden in Kapitel 4 die Ergebnisse der Entwicklung des dreidimensionalen Zellmodells im Detail vorgestellt. Die Ergebnisse der Modellierung der Adhäsion von *Staphylococcus aureus* und der Vergleich zum Experiment folgen in Kapitel 5. Abschließend gibt es in Kapitel 6 eine Diskussion der vorgestellten Ergebnisse und einen Ausblick auf die mögliche weitere Verwendung der entwickelten Modelle.

Kapitel 2

Theoretischer Hintergrund

In diesem Kapitel werden die theoretischen und mathematischen Grundlagen dargelegt, welche zum Verständnis der Ergebnisse dieser Arbeit benötigt werden. Insbesondere wird eine Einführung in die Theorie der stochastischen Prozesse gegeben, danach werden verschiedene Modelle, die für die Arbeit relevant sind, diskutiert und schließlich wird es einen kurzen Abschnitt über Simulationstechniken geben mit denen die besprochenen Modelle untersucht werden können.

2.1 Stochastische Prozesse

Allgemein lassen sich stochastische Prozesse durch eine Funktion $P(C, t)$ beschreiben, die die Wahrscheinlichkeit angibt, das System zur Zeit t in der Konfiguration C zu finden. Wir wollen uns hier auf solche Prozesse beschränken, die die sogenannte Markov-Eigenschaft besitzen. Das bedeutet, dass die Übergangsrate $\omega(C \rightarrow C')$ von einer Konfiguration C in eine andere Konfiguration C' nur vom aktuellen Zustand C abhängt und nicht von anderen Zuständen, die der Prozess in der Vergangenheit durchlaufen hat. Mit der Übergangsrate $\omega(C \rightarrow C')$ verknüpft ist die Wahrscheinlichkeit $p(C \rightarrow C')$ in einem infinitesimalen Zeitintervall dt einen Übergang von C nach C' zu beobachten: $p(C \rightarrow C') = \omega(C \rightarrow C')dt$.

Für Markov-Prozesse gilt die Master-Gleichung [162]. Diese Gleichung beschreibt die Zeitentwicklung der Wahrscheinlichkeit $P(C, t)$.

$$\frac{\partial}{\partial t}P(C, t) = \sum_{C' \neq C} P(C', t)\omega(C' \rightarrow C) - \sum_{C' \neq C} P(C, t)\omega(C \rightarrow C') \quad (2.1)$$

Sie ist eine Bilanzgleichung, die erste Summe auf der rechten Seite sind die Gewinnterme mit allen Übergängen von anderen Konfigurationen zur Konfiguration C , die zweite Summe enthält die Verlustterme mit den Übergängen von Konfiguration C zu anderen Konfigurationen. Wegen der Erhaltung der Wahrscheinlichkeit muss immer $\sum_{C'} \omega(C \rightarrow C')dt = 1$ gelten [16].

Meist ist man an der Untersuchung stationärer Zustände $P(C)$ interessiert, also Zuständen, für die die Zeitableitung auf der linken Seite von 2.1 verschwindet. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich das System in einer Konfiguration C befindet ist dann

zeitunabhängig und es gilt

$$\sum_{C' \neq C} P(C', t) \omega(C' \rightarrow C) = \sum_{C' \neq C} P(C, t) \omega(C \rightarrow C') \quad (2.2)$$

Die Gewinn- und Verlustterme heben sich also gegenseitig auf. Als Folge sind die Mittelwerte physikalischer Größen ebenfalls zeitunabhängig.

Ist das System ergodisch, so ist der stationäre Zustand $P(C)$ eindeutig und dieser wird von jeder beliebigen Anfangskonfiguration $P(C, 0)$ erreicht [17]. Zusätzlich sind dann Zeitmittelwerte physikalischer Größen gleich den Ensemblemittelwerten und unabhängig vom Anfangszustand.

Bei stationären Lösungen der Master-Gleichung 2.1 sind zwei grundsätzliche Fälle zu unterscheiden. Erfüllt die Lösung $P(C)$ die sogenannte detaillierte Bilanz

$$P(C', t) \omega(C' \rightarrow C) = P(C, t) \omega(C \rightarrow C') \quad \forall \quad C, C' \quad (2.3)$$

so befindet sich das System im thermischen Gleichgewicht¹. Die Dynamik des Systems ist dann reversibel, die Wahrscheinlichkeit eine Trajektorie im Phasenraum zu durchlaufen ist invariant unter Zeitumkehr. Eine weitere Folge von Gleichung 2.3 ist die Nichtexistenz von makroskopischen Strömen im stationären Zustand.

Für Systeme im thermischen Gleichgewicht kann die Wahrscheinlichkeit $P(C)$ für jeden Zustand C angegeben werden [139]. Hat der Zustand C die Energie $E(C)$ und befindet sich das System im Gleichgewicht mit einem Wärmebad bei inverser Temperatur β , so gilt für $P(C)$ die Gibbs-Boltzmann Verteilung $P(C) = e^{-\beta E(C)} / Z$ mit der Zustandssumme $Z = \sum_C e^{-\beta E(C)}$. Damit sind solche System im Prinzip gelöst, auch wenn die Berechnung der Zustandssumme im konkreten Fall sehr schwierig sein kann.

Ist die detaillierte Bilanz dagegen nicht erfüllt, gilt also nur Gleichung 2.2, so befindet sich das System im Nichtgleichgewicht. Stationäre Nichtgleichgewichtszustände sind im Gegensatz zum thermischen Gleichgewicht durch die Existenz von makroskopischen Strömen gekennzeichnet. Hier gibt es kein allgemein anwendbares Verfahren zur Bestimmung der stationären Lösung $P(C)$ wie Fall des thermischen Gleichgewichts. Für Systeme fern vom Gleichgewicht gibt es gewöhnlich keine Energiefunktion $E(C)$ und das System ist definiert durch dynamische Regeln [29]. Allerdings gibt es Strukturen, die in Lösungen vieler Systeme auftauchen.

In einigen Fällen lässt sich die Lösung faktorisieren, im Beispiel eines Gitters mit N Plätzen und Konfigurationen, die durch Besetzungszahlen n_i dargestellt werden, nimmt der stationäre Zustand die Form

$$P(C) \sim \prod_{i=1}^N f_i(n_i) \quad (2.4)$$

an. Die f_i sind skalare Faktoren, die den Gitterplätzen in Abhängigkeit ihrer Besetzung zugeordnet werden. Als Beispiel eines Systems, dessen stationäre Lösung diese Struktur besitzt, sei der Zero-Range Prozess genannt [43, 47].

¹Gleichung 2.2 ist ebenfalls erfüllt falls Gleichung 2.3 erfüllt ist. 2.3 ist die stärkere Bedingung.

Eine Verallgemeinerung der Produktzustände aus Gleichung 2.4 stellen Matrixproduktzustände dar. Hier werden die skalaren Faktoren durch Matrizen X_i ersetzt. Da die Matrizen für verschiedene Besetzungszustände nicht kommutieren müssen, können auf diese Weise Korrelationen zwischen den einzelnen Gitterplätzen abgebildet werden. Eine Übersicht über Systeme mit einem solchen Matrixproduktzustand findet sich in [17].

Schließlich kann der stationäre Zustand für ein Nichtgleichgewichtssystem mit einer endlichen Zahl von Zuständen im Prinzip immer berechnet werden. Die Master-Gleichung ist dann ein lineares Gleichungssystem in den Variablen $P(C)$. Allerdings ist diese Berechnung in der Praxis nur selten möglich, da die Zahl der Zustände oft viel zu groß ist.

2.2 Modellierung

In diesem Abschnitt sollen einige Modelle diskutiert werden, die als Grundlage der Arbeit dienen. Dies sind zum einen getriebene Gittergase, die einerseits als Transportmodelle dienen und andererseits aber auch abseits einer konkreten Anwendung vom rein theoretischen Standpunkt aus sehr interessant sind, da sie Systeme fern vom thermischen Gleichgewicht darstellen und trotz ihrer Einfachheit oft sehr komplexes Verhalten zeigen, z.B. randgetriebene Phasenübergänge [86]. Dann wird es zum anderen einen Überblick über verschiedene Polymermodelle geben, hier ist für uns vor allem das Worm-like Chain Modell von Interesse. Abschließend werden wir uns noch mit der Triangulierung von Oberflächen beschäftigen.

2.2.1 Gittergase

Im Folgenden sollen einige einfache Gittergasmodelle diskutiert werden. Beginnen werden wir mit dem Total Asymmetrischen Exklusionsprozess (TASEP), dem Standardmodell für Gittergase. Ursprünglich wurde dieses Modell zur Beschreibung der Biopolymerisation von Ribosomen an einem mRNA-Strang entwickelt [101]. Anschließend werden verschiedene Erweiterungen dieses Basismodells betrachtet.

Neben ihrer rein theoretischen Behandlung findet diese Art von Modell ihre Anwendung häufig in der Modellierung von Transportprozessen, z.B. Autoverkehr, Fußgänger und biologischem Transport in Zellen. Da für jegliche Art von gerichtetem Transport auf die ein oder andere Weise Energie umgesetzt werden muss, befinden sich diese Transportsysteme in einem Zustand fern vom Gleichgewicht. Diese Tatsache und die entsprechend passende Geometrie machen Gittergase zu den bevorzugten Modellen für Transportvorgänge.

TASEP

Der Asymmetrische Exklusionsprozess (ASEP), wie in Abbildung 2.1 dargestellt, ist definiert auf einem eindimensionalen Gitter mit L Plätzen. Diese Plätze können entweder

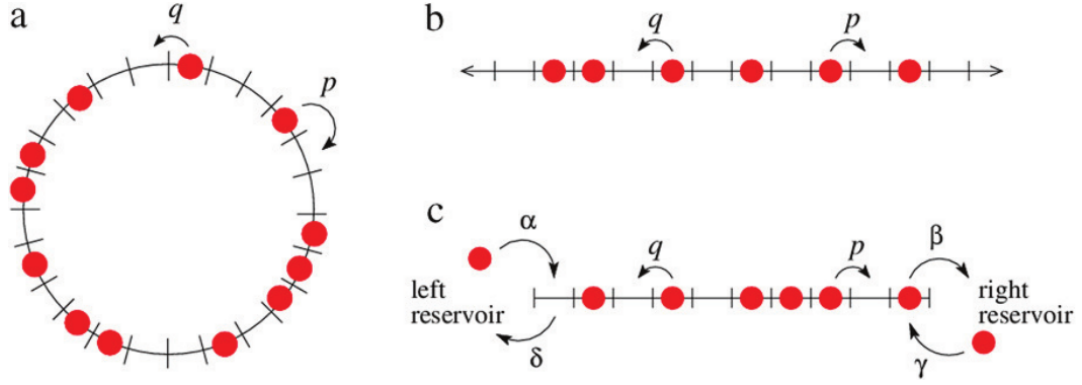


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des ASEP auf einem periodischen (links) bzw. einem offenen (rechts) Gitter. Quelle: [103]

unbesetzt sein oder maximal von einem Teilchen besetzt werden. Die Teilchen hüpfen stochastisch mit Rate q nach links und mit Rate p nach rechts wobei die Sprünge nur ausgeführt werden können wenn der Zielplatz unbesetzt ist (Ausschlusswechselwirkung). In der hier betrachteten total asymmetrischen Variante (TASEP) ist $q = 0$ und die Teilchen hüpfen mit Rate p nach rechts. Gewöhnlich wird $p = 1$ gesetzt und alle anderen Raten werden in Einheiten von p gemessen. Zur vollständigen Definition des Modells sind noch die Randbedingungen anzugeben. Die einfachste Möglichkeit sind periodische Randbedingungen, das Gitter wird hier zu einem Ring geschlossen sodass Platz 1 und Platz L benachbart sind. Eine zweite, sehr häufig betrachtete Form der Randbedingungen sind offene Ränder. Hier wird am linken Rand mit Rate α ein Teilchen in das System gebracht, vorausgesetzt der erste Platz ist unbesetzt. Ein Teilchen, das sich auf dem letzten Platz am rechten Rand befindetet kann das System mit Rate β verlassen. Die so definierten offenen Ränder entsprechen einer Kopplung des Systems am linken Rand an ein Teilchenreservoir mit Dichte α und am rechten Rand an ein Reservoir mit Dichte $1 - \beta$.

Wegen der Relevanz für diese Arbeit beschränken wir uns auf eine Darstellung des offenen Systems. Der stationäre Zustand kann hier analytisch exakt berechnet werden [30, 31, 142]. Das Phasendiagramm des Modells kann allerdings auch ohne die exakte Lösung aus einer Mean-field Betrachtung [17] abgeleitet werden, sowie aus einer Untersuchung der Domänenwandddynamik [135] und aus einem Extremalprinzip für den makroskopischen Strom [126]. Die vollständige Lösung in [31] basiert auf einem Matrix-Produktansatz für die statistischen Gewichte der Konfigurationen des Systems. Das daraus erhaltene Phasendiagramm des TASEP enthält verschiedenen Phasen, abhängig von den Werten der Raten α und β . Wir bezeichnen mit τ_i die Besetzungszahlvariable von Gitterplatz i , es ist dann $\tau_i = 1$ falls Platz i besetzt ist und $\tau_i = 0$ falls der Platz unbesetzt ist. Der TASEP besitzt eine Teilchen-Loch Symmetrie, das System bleibt invariant unter den simultanen Transformationen

$$\tau_i \leftrightarrow 1 - \tau_i \quad \alpha \leftrightarrow \beta \quad i \leftrightarrow L + 1 - i \quad (2.5)$$

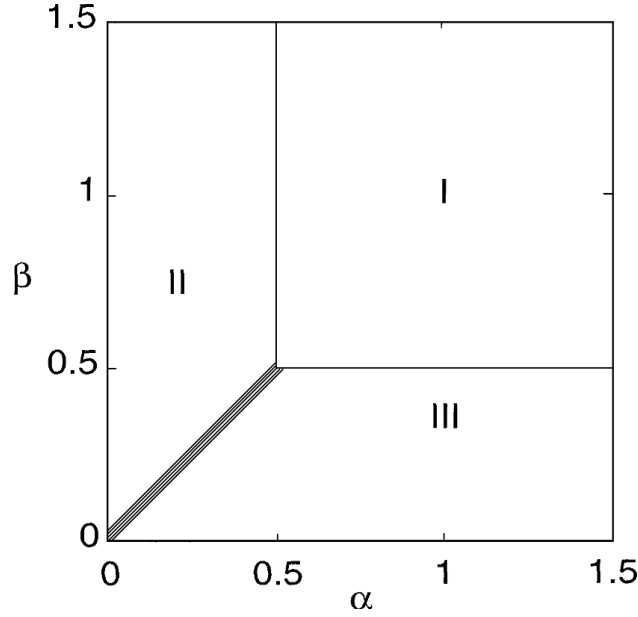


Abbildung 2.2: Phasendiagramm des offenen TASEP als Funktion der Eintritts- und Austrittsraten α und β mit den Phasen Niedrigdichtephase (II), Hochdichtephase (III) und Maximalstromphase (I). Hervorgehoben in Fettdruck ist die Koexistenzlinie für $\alpha = \beta < 1/2$. Quelle: [29]

Die mittlere Dichte ρ_i und der Strom J schreiben sich dann

$$\rho_i = \langle \tau_i \rangle \quad J = \langle \tau_i (1 - \tau_{i+1}) \rangle \quad (2.6)$$

Die mittlere Dichte ist wegen der Brechung der Translationsinvarianz vom Gitterplatz abhängig, der Strom dagegen ist im stationären Zustand auf Grund der lokalen Teilchenzahlerhaltung unabhängig vom Gitterplatz.

Die Master-Gleichungen für die mittleren Besetzungszahlen $\langle \tau_i \rangle$ schreiben sich dann:

$$\frac{d \langle \tau_i \rangle}{dt} = \langle \tau_{i-1} (1 - \tau_i) \rangle - \langle \tau_i (1 - \tau_{i+1}) \rangle \quad 1 < i < L \quad (2.7)$$

$$\frac{d \langle \tau_1 \rangle}{dt} = \alpha \langle (1 - \tau_1) \rangle - \langle \tau_1 (1 - \tau_2) \rangle \quad (2.8)$$

$$\frac{d \langle \tau_L \rangle}{dt} = \langle \tau_{L-1} (1 - \tau_L) \rangle - \beta \langle \tau_L \rangle \quad (2.9)$$

Hochdichtephase Für $\beta < \frac{1}{2}$ und $\alpha > \beta$ befindet sich das System in der Hochdichtephase. Für die Dichte entfernt von den Rändern erhält man $\rho = 1 - \beta$ und für den Strom $J = \beta(1 - \beta)$. Das System wird hier vom rechten Rand dominiert.

Niedrigdichtephase Für $\alpha < \frac{1}{2}$ und $\alpha < \beta$ ist das System in der Niedrigdichtephase. Die Dichte entfernt von den Rändern ist hier $\rho = \alpha$ und der Strom $J = \alpha(1 - \alpha)$. Hier dominiert der linke Rand das System.

Maximalstromphase Für $\alpha \geq \frac{1}{2}$ und $\beta \geq \frac{1}{2}$ erhält man die Maximalstromphase. Die Dichte entfernt von den Rändern ist $\rho = \frac{1}{2}$ und der Strom nimmt seinen maximalen Wert $J = \frac{1}{4}$ an. Strom und Dichte sind hier unabhängig von den konkreten Werten von α und β .

Koexistenzlinie Auf der Koexistenzlinie $\alpha = \beta < \frac{1}{2}$ ist das Dichteprofil fern von den Rändern linear mit $\rho_i = \alpha + \frac{i}{L}(1 - 2\alpha)$ und der Strom ist $J = \alpha(1 - \alpha)$. Das Dichteprofil ist hier linear, weil das linke Reservoir versucht dem System eine Dichte von α aufzuprägen und das rechte Reservoir eine Dichte von $1 - \beta$. Treffen sich beide Dichten im System, entsteht eine Domänenwand im Dichteprofil, welche einen Random-Walk [143] auf dem Gitter ausführt. Das Dichteprofil im stationären Zustand ist eine Superposition dieser Zustände.

PFF-Modell

Das PFF-Modell ist eine Erweiterung des TASEP um eine Langmuir-Kinetik. Dieses Modell wurde von A. Parmeggiani et. al. in [123] eingeführt, weitere Untersuchungen des PFF-Modells finden sich in [44, 80, 124, 125].

Zusätzlich zur Dynamik im TASEP können hier die Teilchen das Gitter mit einer Rate ω_d verlassen und unbesetzte Plätze können mit einer Rate ω_a von einem Teilchen besetzt werden. Dies entspricht der Kopplung des Gitters an ein Teilchenreservoir mit konstanter Dichte und unendlich schneller Diffusion der Teilchen im Reservoir, da das Hinzufügen oder Wegnehmen eines Teilchens die Dichte im Reservoir lokal und global unverändert lässt. Die Randreservoirs bleiben davon unberührt. Das PFF-Modell ist vor allem im Hinblick auf die Modellierung von intrazellulärem Transport interessant, da es dem TASEP eine grundlegende Eigenschaft molekularer Motoren hinzufügt, nämlich die Fähigkeit sich vom Filament zu lösen nachdem dort ein gewisser Weg zurückgelegt wurde und umgekehrt auch wieder an das Filament zu binden.

Im Unterschied zum TASEP ist das PFF-Modell nicht exakt lösbar, allerdings kann das Phasendiagramm durch eine Mean-Field Näherung erhalten werden. Im Kontinuumslimites lautet die Mean-Field Gleichung des Modells mit Gitterlänge L in führender Ordnung L^{-1} :

$$\frac{\partial \rho}{\partial \tau} = -(1 - 2\rho) \frac{\partial \rho}{\partial x} + \omega_d L [K - (1 + K)\rho] \quad (2.10)$$

mit $\tau = t/L$, $x = i/L$ und $K = \omega_a/\omega_d$. Für die weitere Untersuchung des Modells wird der Fall

$$\Omega_a = \omega_a L = \text{const.} \quad \Omega_d = \omega_d L = \text{const.}$$

betrachtet. Würde man die Rate ω_d konstant wählen, so würde der Anteil des Gitters, der von einem Teilchen durchlaufen wird bevor es sich wieder ablöst gegen Null gehen wenn $L \rightarrow \infty$. Skaliert man aber die Rate invers mit der Systemgröße so bleibt dieser Anteil für $L \rightarrow \infty$ konstant. Die gleiche Argumentation für Löcher führt auf die

Skalierung von ω_a ². In diesem Fall kann man eine Konkurrenz zwischen den Teilchenreservoirs an den Rändern und der Langmuir-Kinetik erwarten. Die Langmuir-Kinetik wird versuchen dem System ihre Gleichgewichtsdichte $\rho_{eq} = \omega_a/(\omega_a + \omega_d)$ aufzuprägen, während die Randreservoirs versuchen ihre eigene Dichte aufzuprägen.

Das stationäre Phasendiagramm erhält man durch Nullsetzen der Zeitableitung in Gleichung 2.10. Dies führt auf eine gewöhnliche Differentialgleichung erster Ordnung mit den Randbedingungen $\rho(0) = \alpha$ und $\rho(1) = 1 - \beta$. Die Gleichung ist also überbestimmt, die Integration von $\partial\rho/\partial t = 0$ vom linken und rechten Rand führt an der Stelle, an der sich beide Lösungen treffen zu einem Shock, falls die Lösungen inkompatibel sind. Im TASEP existiert auf der Koexistenzlinie $\alpha = \beta$ ebenfalls eine Shocklösung. Dort bewegt sich der Shock diffusiv durch das Gitter. Im PFF-Modell ist das Verhalten davon verschieden, hier ist der Shock lokalisiert und seine Position wird bestimmt durch die Bedingung, dass der Massenfluss durch den Shock verschwindet.

Insgesamt enthält das Phasendiagramm mehr Phasen als im TASEP, abhängig von den Raten ω_a und ω_d . Neben den bekannten TASEP-Phasen ermöglicht die Langmuir-Kinetik Phasen, in denen die aus dem TASEP bekannten Phasen koexistieren, zudem kommt noch die oben erwähnte Shockphase hinzu.

Für $K \neq 1$ reduziert sich die Zahl der Phasen. Die Gleichgewichtsdichte der Langmuir-Kinetik ρ_{eq} ist dann ungleich 1/2 und treibt das System daher weg von der Maximalstromphase. Für eine detaillierte Diskussion des Phasendiagramms wird auf [44] verwiesen, wir wollen uns an dieser Stelle mit dem gegebenen Überblick begnügen.

Es existieren einige Erweiterungen des PFF-Modells, die das Modell näher an die biologischen Gegebenheiten bringen und hier kurz Erwähnung finden sollen. In [23, 63, 120] wird die Teilchendynamik um den expliziten Hydrolysezyklus eines Kinesin-Motors erweitert. Lipowsky et. al. [82, 83, 99, 118, 119] haben ein Modell eingeführt, in dem die Diffusion ungebundener Teilchen explizit ausgeführt wird. Dazu wird ein kubisches Gitter betrachtet in dem lineare Ketten von Knoten die Filamente darstellen. Entlang dieser Linien führen die Teilchen gerichtete Bewegungen aus, verlassen sie die Filamentknoten, wird ihre Bewegung durch einen ungerichteten Random-Walk beschrieben. Dadurch erhält man eine deutlich realistischere Geometrie, da sich die ungebundene Teilchen jetzt in einer dreidimensionalen Umgebung bewegen können. Des weiteren wurden Modelle untersucht, bei denen verschiedene Prozesse des Systems durch Defekte des Gitters gestört werden. In [66] ist das Binden von Motoren an Filamente durch die Präsenz von Tau-Proteinen gestört, auch hier wird die Diffusion ungebundener Teilchen explizit beschrieben. Greulich et. al. [65] haben ein Modell untersucht, in dem die Hüpferten auf dem Gitter durch Defekte beeinflusst werden.

Modelle mit zwei Spuren und zwei Teilchensorten

Eine natürliche Erweiterung der bisher diskutierten Modelle, auch im Hinblick auf die Modellierung von Transportvorgängen in Zellen, ist die Einführung einer zweiten Teilchensorten [138] und zusätzlicher Spuren [46], also zusätzlichen Gittern die durch

²Das PFF-Modell besitzt ebenfalls eine Teilchen-Loch Symmetrie unter den simultanen Transformationen $\alpha \leftrightarrow \beta$ $\omega_a \leftrightarrow \omega_d$ $i \leftrightarrow L + 1 - i$ $\tau_i \leftrightarrow 1 - \tau_i$.

verschiedene Mechanismen gekoppelt sein können. Es gibt zu diesem Thema eine enorme Fülle an Literatur, die folgende Übersicht hat daher nicht den Anspruch vollständig zu sein.

Derrida et. al. [32, 33] führten sogenannte Second-class Teilchen im TASEP ein, um das Verhalten des Shocks im Dichteprofil näher zu untersuchen. Diese Second-class Teilchen verhalten sich wie normale Teilchen, der einzige Unterschied besteht darin, dass Second-class und normale Teilchen ihre Positionen austauschen können, falls sich das normale Teilchen in Hüpfrichtung hinter dem Second-class Teilchen auf dem benachbarten Gitterplatz befindet.

Evans et. al. [41, 42, 58] betrachteten einen wirklichen Zwei-Teilchen TASEP, hier gibt es zwei Teilchensorten, die in entgegengesetzter Richtung auf dem Gitter laufen. Treffen sich Teilchen unterschiedlicher Sorte auf benachbarten Plätzen, können sie ihre Positionen in Laufrichtung austauschen. Dieses System erfährt in einem bestimmten Parameterbereich eine spontane Symmetriebrechung, d.h. die Ströme beider Teilchensorten sind unterschiedlich obwohl beide Sorten in allen Parameterwerten übereinstimmen. Die Existenz einer der symmetriebrechenden Phasen war einige Zeit Objekt einer Debatte [8, 25]. Es konnte dann gezeigt werden, dass die betreffende Phase ein finite-size Effekt ist, der im Limes großer Systeme verschwindet [39]. Spontane Symmetriebrechung findet sich auch in einer Erweiterung des PFF-Modells auf zwei Teilchensorten [91].

Das von Arndt et. al. [9–12] untersuchte AHR-Modell ist eine Modifikation des eben erwähnten Zwei-Teilchen TASEP. Die beiden Teilchensorten können nun ihre Positionen auch gegen ihre Laufrichtung austauschen. Dies kann zu einer Separation von Phasen führen, die jeweils nur eine Teilchensorte bzw. Löcher enthalten.

Neben zusätzlichen Sorten von Teilchen können auch weitere Spuren hinzugefügt werden. Diese Spuren können durch direkten Teilchenaustausch gekoppelt werden [136] oder die Kopplung ist indirekt, indem die Hüpfraten auf einer Spur durch die Besetzung anderer Spuren bestimmt werden [128], wobei auch beide Kopplungsarten zusammen betrachtet werden können [129]. Die Gesamtzahl der Spuren ist nicht auf zwei beschränkt, Curatolo et. al. [26] präsentierten eine Arbeit über Modelle mit beliebig vielen Spuren.

Schließlich gibt es Modelle, die zwei Sorten von Teilchen mit mehreren Spuren kombinieren um bidirektionalen Transport zu modellieren. Lin et. al. [93, 137] untersuchten in Anlehnung an die 13 Protofilamente eines Mikrotubulus ein Modell mit eben 13 Spuren und zwei verschiedenen Teilchensorten.

Ebbinghaus et. al. [35–37] haben in einer Reihe von Arbeiten ein Modell untersucht, dass eine Erweiterung des PFF-Modells auf zwei Spuren und zwei Teilchensorten darstellt, um bidirektionalen, intrazellulären Transport zu modellieren. Abbildung 2.3 zeigt eine schematische Darstellung des Modells. Auf der unteren Spur bewegen sich die Teilchen gerichtet in entgegengesetzter Richtung unter Beachtung von Ausschlusswechselwirkung. Die obere Spur ist diffusiv, die Teilchen führen hier einen symmetrischen Random-walk aus. Dabei kann ein Gitterplatz von mehr als einem Teilchen besetzt werden, es gibt hier keine Wechselwirkung zwischen den Teilchen. Es wurden periodische Randbedingungen gewählt. Für dieses Modell wurden zwei verschiedene Regime

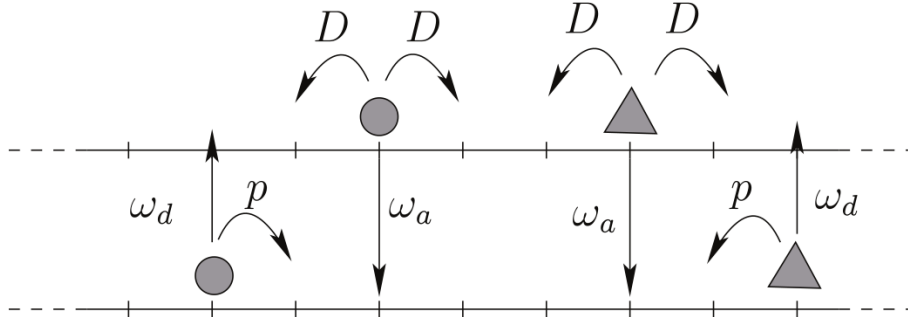


Abbildung 2.3: Darstellung eines Gittergasmodells mit zwei Spuren und zwei Teilchensorten. Auf der unteren Spur führen die Teilchen eine gerichtete Bewegung in entgegengesetzter Richtung aus wobei kein Platz doppelt besetzt sein darf während sie auf der oberen Spur wechselwirkungsfrei diffundieren. Ein Wechsel der Spur ist dabei erlaubt. Quelle: [35]

gefunden, eine homogene Phase und eine Phase, in der sich ein signifikanter Anteil der Teilchen in einem Cluster befindet. Durch die Einführung eines dynamischen Gitters bei dem einzelne Knoten zufällig gelöscht und hinzugefügt werden, ist es möglich den Cluster aufzulösen und die Effizienz des Transports zu erhöhen [35].

In meiner Diplomarbeit [154] habe ich das entsprechende System mit offenen Rändern untersucht. Auch hier sieht man die Bildung großer Cluster, die den Transport durch das System blockieren. Zusätzlich zeigt das offene System in einem bestimmten Parameterbereich spontane Symmetriebrechung.

2.2.2 Polymermodelle

In vielen Bereichen der Biologie spielen Polymere eine entscheidende Rolle. Die Filamente in Zellen zählen genauso dazu wie die Proteine in den Zellwänden von Bakterien. Auch in den in dieser Arbeit modellierten Systemen tauchen Polymere auf, daher werden in diesem Abschnitt einige Polymermodelle vorgestellt. Zwei Ansätze sind hier zu unterscheiden, die Polymere können als Ketten diskreter Segmente modelliert werden oder als kontinuierliche, glatte Kurven. Weiterführende Literatur findet sich in der Form von Lehrbüchern [50, 51, 112, 151].

Freely Jointed Chain (FJC) Modell

Das FJC-Modell ist der einfachste Ansatz zur Beschreibung von Polymeren. Das Modell besteht aus einer Kette von N Segmenten der Länge l , vgl. Abbildung 2.4. Für den Verbindungsvektor \vec{r}_i zweier benachbarter Segmente i und $i + 1$ gilt dann $|\vec{r}_i| = l$. Die einzelnen Verbindungsvektoren sind dabei unkorreliert.

$$\langle \cos \theta_{ij} \rangle = 0 \quad \forall \quad i \neq j \quad (2.11)$$

θ_{ij} ist dabei der Tangentenwinkel zwischen den Verbindungsvektoren \vec{r}_i und \vec{r}_j und $\langle \cos \theta_{ij} \rangle$ bezeichnet den statistischen Mittelwert. Der Bindungswinkel zwischen zwei benachbarten Segmenten nimmt daher einen beliebigen, zufälligen Wert an. Für den Mittelwert des Ende-zu-Ende Vektors $\vec{R} = \sum_{i=1}^N \vec{r}_i$ erhält man auf Grund der isotropen Verteilung der Verbindungsvektoren

$$\langle \vec{R} \rangle = 0 \quad (2.12)$$

Der erste nicht triviale Mittelwert ist³ $\langle \vec{R}^2 \rangle$:

$$\langle \vec{R}^2 \rangle = \langle R^2 \rangle = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle \vec{r}_i \vec{r}_j \rangle = l^2 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle \cos \theta_{ij} \rangle \quad (2.13)$$

Die einzigen nicht verschwindenden Terme in der Summe sind wegen Gleichung 2.11 die mit $i = j$, für diese gilt $\cos \theta_{ii} = 1$. Als Ergebnis erhält man daher

$$\langle R^2 \rangle = Nl^2 \quad (2.14)$$

Das FJC-Modell beschreibt ein Polymer also als einen Random-walk in drei Dimensionen. Die Verteilung der Ende-zu-Ende Vektoren ist daher für ausreichend lange Ketten durch eine Gauß-Verteilung gegeben.

$$P(N, \vec{R}) = \sqrt{\frac{3}{2\pi \langle R^2 \rangle}} \exp \left(-\frac{3R^2}{2 \langle R^2 \rangle} \right) \quad (2.15)$$

Der Ende-zu-Ende Vektor ist nicht immer eine gute Wahl um die Ausdehnung von Polymeren zu beschreiben, z.B. für verzweigte Polymere oder solche die einen Ring formen. Hier ist der quadratische Gyrationradius besser geeignet, dieser ist definiert durch

$$R_g^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\vec{R}_i - \vec{R}_m)^2 \quad (2.16)$$

Dabei ist \vec{R}_i die Position des i-ten Segments und $\vec{R}_m = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \vec{R}_j$ der Schwerpunkt des Polymers. Setzt man den Ausdruck für den Schwerpunkt ein und bildet den Mittelwert, so erhält man für den mittleren quadratischen Gyrationradius

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle (\vec{R}_i - \vec{R}_j)^2 \rangle \quad (2.17)$$

Nach einigen Umformungen erhält man für den Gyrationradius als Funktion des Ende-zu-Ende Vektors:

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{\langle R^2 \rangle}{6} \quad (2.18)$$

Anmerkung: Für hinreichend lange Ketten sind die Ausdrücke für die Verteilung der Ende-zu-Ende Vektoren und den Gyrationradius auch für das FRC-Modell und das WLC-Modell gültig.

³Es gilt $\vec{r}_i \vec{r}_j = l^2 \cos \theta_{ij}$.

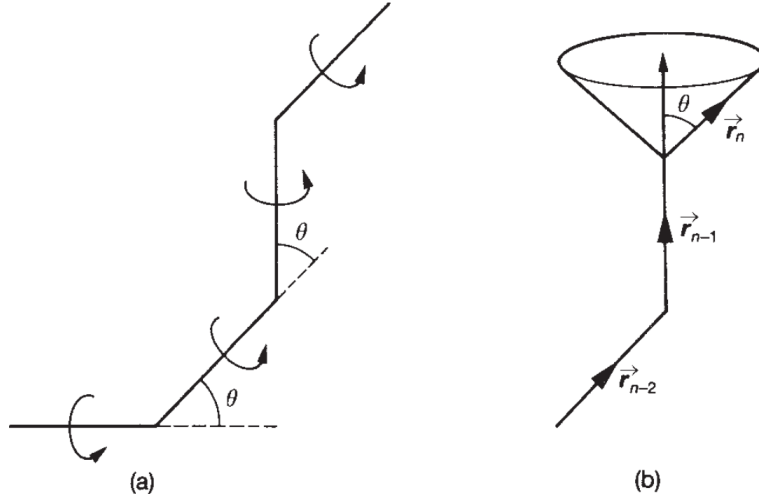


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung des FRC-Modells. Der Bindungswinkel θ hat einen festen Wert während der Torsionswinkel ϕ beliebig ist und alle Werte gleich wahrscheinlich sind. Quelle: [52]

Freely Rotating Chain (FRC) model

Im FRC-Modell haben wieder alle Verbindungsvektoren die gleiche Länge l , die Bindungswinkel zwischen zwei benachbarten Segmenten sind jetzt aber auf einen festen Wert θ fixiert. Der Torsionswinkel ϕ_i , siehe Abbildung 2.4, kann weiter einen beliebigen Wert annehmen wobei alle Werte gleich wahrscheinlich sind.

Durch die Fixierung des Bindungswinkels werden Korrelationen zwischen den Verbindungsvektoren eingeführt. Es gilt:

$$\langle \vec{r}_i \vec{r}_j \rangle = l^2 (\cos \theta_{ij})^{|i-j|} = l^2 \exp \left(-\frac{|i-j|}{s_p} \right) \quad (2.19)$$

mit $s_p = \frac{1}{\ln(\cos \theta)}$. s_p ist dabei die charakteristische Zahl von Kettensegmenten, über die die Korrelationen zwischen den Verbindungsvektoren abklingen. Die Persistenzlänge l_p als charakteristische Abklinglänge ergibt sich dann durch

$$l_p = s_p l \quad (2.20)$$

Für den Mittelwert $\langle R^2 \rangle$ erhält man hier:

$$\langle R^2 \rangle = N l^2 \frac{1 + \cos \theta}{1 - \cos \theta} \quad (2.21)$$

Worm-Like Chain (WLC) Modell

Es gibt verschiedene Möglichkeiten das WLC-Modell zu definieren. Man kann es als Grenzfall des FRC-Modells einführen mit $l \rightarrow 0$ und $\theta \rightarrow 0$ bei $l/\theta^2 = \text{const.}$ und $nl =$

const. oder auch durch Angabe der Hamilton-Funktion

$$H = \frac{k}{2} \int_0^L \left(\frac{\partial t(s)}{\partial s} \right)^2 ds \quad (2.22)$$

definieren. Hier ist das Polymer dann eine stetige Kurve, die durch s parametrisiert wird und $t(s)$ ist der Tangentenvektor an die Kurve im Punkt s . k ist ein konstanter Parameter, der die Biegesteifigkeit des Polymers beschreibt.

Wir wollen hier einen allgemeineren Ansatz wählen, der [88] entnommen ist. Wir betrachten das Polymer als homogenen Faden. Die Form dieses Fadens kann durch Angabe eines Krümmungsvektors $\vec{\rho}$ bestimmt werden. Dieser ist entlang der Hauptnormalen der Kurve gerichtet und vom Betrag her gleich der Krümmung in diesem Punkt. Wenn wir uns auf kleine Werte der Krümmung beschränken kann die freie Energie des Polymers pro Längeneinheit nach den Komponenten von $\vec{\rho}$ entwickelt werden ⁴.

$$F = F_0 + \frac{1}{2} \sum_{i,k} a_{ik} \rho_i \rho_k \quad (2.23)$$

Die linearen Glieder fehlen in dieser Entwicklung, da die freie Energie in der Gleichgewichtslage (gerade Form, $\vec{\rho} \equiv 0$) ein Minimum annimmt. Die Koeffizienten a_{ik} beschreiben den Widerstand des geradlinigen Moleküls gegen Verbiegungen. Wegen der vorausgesetzten Homogenität hängen diese nicht von der Position entlang des Moleküls ab. Der Vektor $\vec{\rho}$ liegt in der Normalenebene der Kurve und hat in dieser Ebene zwei unabhängige Komponenten. Die Konstanten a_{ik} bilden einen zweidimensionalen symmetrischen Tensor zweiter Stufe in der Normalenebene, dieser kann diagonalisiert werden wobei wir die beiden Eigenwerte mit a_1 und a_2 bezeichnen. Wir betrachten hier den allgemeinen Fall, in dem das Molekül nicht axialsymmetrisch ist und sich beide Eigenwerte daher unterscheiden. Gleichung 2.23 transformiert sich dann zu

$$F = F_0 + \frac{1}{2} (a_1 \rho_1^2 + a_2 \rho_2^2) \quad (2.24)$$

wobei ρ_1 und ρ_2 die Komponenten bezüglich der Hauptachsen des Tensors a_{ik} sind. Durch Integration über die gesamte Länge des Moleküls erhalten wir die Gesamtänderung der freien Energie

$$\Delta F_{tot} = \frac{1}{2} \int (a_1 \rho_1^2 + a_2 \rho_2^2) ds \quad (2.25)$$

Nun seien \vec{t}_a und \vec{t}_b die Einheitstangentenvektoren an die Kurve in den Punkten a und b , die entlang der Kurve einen Abstand l haben. Bezeichnen wir mit θ den Winkel zwischen diesen beiden Vektoren, so gilt

$$\vec{t}_a \vec{t}_b = \cos \theta \quad (2.26)$$

⁴Für sehr lange Moleküle schließt dies nicht aus, dass die Krümmung zwischen weit entfernten Punkten beträchtliche Werte annehmen kann.

Die Drehung des Vektors \vec{t}_a auf den Vektor \vec{t}_b kann in zwei unabhängige Drehungen zerlegt werden. Einmal eine Drehung von \vec{t}_a um den Winkel θ_1 in der von \vec{t}_a und einer Hauptachse des Tensors a_{ik} aufgespannten Ebene. Und einer zweiten Drehung um den Winkel θ_2 in der durch \vec{t}_a und der zweiten Hauptachse von a_{ik} erzeugten Ebene⁵. Dann gilt im Fall kleiner Drehwinkel

$$\theta^2 = \theta_1^2 + \theta_2^2 \quad (2.27)$$

und für den Zusammenhang mit den Komponenten des Krümmungsvektors

$$\rho_1 = \frac{d\theta_1(l)}{dl} \quad \rho_2 = \frac{d\theta_2(l)}{dl}. \quad (2.28)$$

Die Änderung der freien Energie nimmt dann die Form

$$\Delta F_{tot} = \frac{1}{2} \int \left[a_1 \left(\frac{d\theta_1(s)}{ds} \right)^2 + a_2 \left(\frac{d\theta_2(s)}{ds} \right)^2 \right] ds \quad (2.29)$$

an. Wir betrachten das Integral in Gleichung 2.29 jetzt eingeschränkt auf die Strecke zwischen den Punkten a und b . Jetzt wollen wir die Wahrscheinlichkeit für eine Fluktuation ΔF_{tot} berechnen, wenn die Werte $\theta_1(l) = \theta_1$ und $\theta_2(l) = \theta_2$ vorgegeben sind. Dabei sei o.B.d.A. der Punkt a bei $s = 0$ und b bei $s = l$ sowie $\theta_1(s = 0) = 0$ und $\theta_2(s = 0) = 0$. Die Form des Moleküls wird sich dann so einstellen, dass das Integral 2.29 bei den gegebenen Werten der Integralgrenzen ein Minimum annimmt.

Dieses Minimum ergibt sich genau dann, wenn sich $\theta_1(s)$ und $\theta_2(s)$ nach einem linearen Gesetz ändern, also

$$\theta_1(s) = \frac{\theta_1}{l} s \quad \theta_2(s) = \frac{\theta_2}{l} s \quad (2.30)$$

Setzt man diese Ausdrücke in 2.29 ein und führt die Integration aus, so ergibt sich für ΔF_{tot}

$$\Delta F_{tot} = \frac{a_1 \theta_1^2}{2l} + \frac{a_2 \theta_2^2}{2l} = \Delta F_1 + \Delta F_2 \quad (2.31)$$

Die Fluktuationen θ_1 und θ_2 sind voneinander unabhängig, dementsprechend gilt für die jeweiligen Wahrscheinlichkeiten

$$\omega_i \sim \exp \left(-\frac{\Delta F_i}{T} \right) \quad (2.32)$$

Wobei T die Temperatur bezeichnet. Damit erhält man für die mittleren Quadrate der beiden Winkel

$$\langle \theta_1^2 \rangle = \frac{lT}{a_1} \quad \langle \theta_2^2 \rangle = \frac{lT}{a_2} \quad (2.33)$$

sowie für das mittlere Quadrat des Winkel θ

$$\langle \theta^2 \rangle = \langle \theta_1^2 \rangle + \langle \theta_2^2 \rangle = lT \left(\frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} \right) \quad (2.34)$$

⁵Die beiden hier genannten Hauptachsen von a_{ik} liegen in der Normalenebene der Kurve welche senkrecht zu \vec{t}_a im Punkt a liegt.

Wir wollen nun noch die Korrelationen zwischen den Tangenten \vec{t}_a und \vec{t}_b berechnen. Für kleine Winkel θ gilt:

$$\langle \cos \theta(l) \rangle \approx 1 - \frac{\langle \theta^2 \rangle}{2} = 1 - \frac{lT}{a} \approx \exp \left(-\frac{l}{a/T} \right) \quad (2.35)$$

wobei die Bezeichnung

$$\frac{2}{a} = \frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} \quad (2.36)$$

eingeführt wurde. Mit Gleichung 2.35 lässt sich die Persistenzlänge als charakteristische Abklinglänge der Richtungskorrelationen definieren:

$$l_p = a/T = \frac{2}{T \left(\frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_2} \right)} \quad (2.37)$$

Mit der so definierten Persistenzlänge ergibt sich für das mittlere Quadrat des Winkels θ

$$\langle \theta^2 \rangle = \frac{2lT}{a} = \frac{2l}{l_p} \quad (2.38)$$

Für das mittlere Quadrat des Abstandes der beiden Enden des Moleküls erhält man:

$$\langle R^2 \rangle = 2l_p^2 \left(\frac{L}{l_p} - 1 + e^{-L/l_p} \right) \quad (2.39)$$

wobei L die Gesamtlänge des Polymers bezeichnet. Für $l_p \gg L$ strebt $\langle R^2 \rangle$ gegen L^2 und für $l_p \ll L$ gilt

$$\langle R^2 \rangle = 2l_p L \quad (2.40)$$

In diesem Fall gilt für den Gyrationradius im WLC-Modell:

$$\langle R_g^2 \rangle = \frac{\langle R^2 \rangle}{6} = \frac{l_p L}{3} \quad (2.41)$$

Abschließend sollen noch zwei wichtige Spezialfälle diskutiert werden, einmal der Fall $a_1 = a_2$ und zweitens der Fall, wenn sich das Molekül nur entlang einer Hauptachse von a_{ik} biegen kann, also der Fall eines zweidimensionalen Moleküls. Dieser Fall kann durch setzen von $a_2 = \infty$ behandelt werden.

$a_1 = a_2$ In diesem Fall schreibt sich die Änderung der freien Energie

$$\Delta F_{tot} = \frac{a_1 \theta_1^2}{2l} + \frac{a_2 \theta_2^2}{2l} = \Delta F_1 + \Delta F_2 = \frac{a_1}{2l} \theta^2 \quad (2.42)$$

Das mittlere Quadrat des Winkels θ ist dann

$$\langle \theta^2 \rangle = \langle \theta_1^2 \rangle + \langle \theta_2^2 \rangle = lT \left(\frac{1}{a_1} + \frac{1}{a_1} \right) = \frac{2lT}{a_1} \quad (2.43)$$

Die Korrelationen:

$$\langle \cos \theta(l) \rangle \approx 1 - \frac{\langle \theta^2 \rangle}{2} = 1 - \frac{lT}{a_1} \approx \exp \left(-\frac{l}{a_1/T} \right) \quad (2.44)$$

mit der Persistenzlänge

$$l_p = a_1/T \quad (2.45)$$

und dem mittleren Quadrat des Winkels θ als Funktion der Persistenzlänge

$$\langle \theta^2 \rangle = \frac{2lT}{a_1} = \frac{2l}{l_p} \quad (2.46)$$

Mit der Ersetzung $a \leftrightarrow a_1$ erhält man diesen Fall also aus dem allgemeinen Fall. Man beachte jedoch, dass sich auch hier die Fluktuationen des Winkels θ aus den zwei unabhängigen Fluktuationen θ_1 und θ_2 zusammensetzen, die Varianz von θ ist daher die Summe der Varianzen von θ_1 und θ_2 . Insbesondere darf man daher zur Berechnung der Wahrscheinlichkeit einer Fluktuation nicht Gleichung 2.42 in Gleichung 2.32 einsetzen.

$a_2 = \infty$ Für das mittlere Quadrat des Winkels θ_2 ergibt sich dann

$$\langle \theta_2^2 \rangle = \frac{lT}{a_2} = 0 \quad (2.47)$$

Damit ist das mittlere Quadrat des Winkels θ gegeben durch

$$\langle \theta^2 \rangle = \frac{lT}{a_1} \quad (2.48)$$

Für die Korrelationen erhält man dann

$$\langle \cos \theta(l) \rangle \approx 1 - \frac{\langle \theta^2 \rangle}{2} = 1 - \frac{lT}{2a_1} \approx \exp \left(-\frac{l}{2a_1/T} \right) \quad (2.49)$$

Hier ändert sich nun der Ausdruck für die Persistenzlänge:

$$l_p = 2a_1/T \quad (2.50)$$

Das mittlere Quadrat des Winkels θ als Funktion von l_p bleibt aber gleich

$$\langle \theta^2 \rangle = \frac{lT}{a_1} = \frac{2l}{l_p} \quad (2.51)$$

Bei gleicher Biegesteifigkeit a_1 ist die Persistenzlänge in zwei Dimensionen also doppelt so groß wie in drei Dimensionen. Da sich das Polymer in zwei Dimensionen nur in eine unabhängige Richtung biegen kann, bleiben die Richtungskorrelationen der Tangenten über größere Distanzen erhalten.

Die hier präsentierte Beschreibung ist die kontinuierliche Variante des WLC-Modells, die Ergebnisse ermöglichen aber die einfache Definition einer diskreten Version. Dazu betrachtet man eine Kette von Segmenten mit gleicher Länge l , die Bindungswinkel θ_{ij} benachbarter Segmente sind dann normalverteilt mit Mittelwert $\langle \theta_{ij} \rangle = 0$ und Varianz $\langle \theta_{ij}^2 \rangle = \frac{2l}{l_p}$. Die Torsionswinkel werden gleichverteilt aus dem Intervall $[0, 2\pi]$ gewählt.

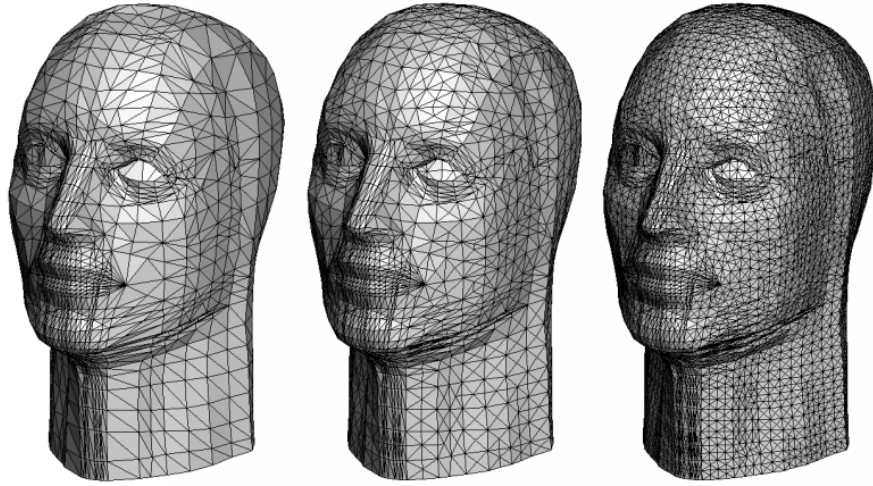


Abbildung 2.5: Beispiel einer triangulierten Oberfläche mit unterschiedlichen Feinheitsgraden. Quelle: [1].

2.2.3 Oberflächentriangulierung

Im Rahmen der Entwicklung des 3D-Zellmodells wurde die Membran einer Zelle trianguliert. In diesem Abschnitt wird es deshalb eine Einführung in das Thema der Oberflächentriangulierung geben, zudem werden die zentralen Begriffe definiert und erklärt, die benötigt werden um eine solche Triangulierung zu beschreiben. Zusätzlich werden einige Techniken und Verfahren erläutert, die in der praktischen Anwendung von Triangulationen nützlich sind und in dieser Arbeit angewandt wurden. Es existiert zu diesem Thema eine riesige Menge an Literatur, für einen ersten Überblick und eine Einführung in das Thema sei auf die Arbeiten von Jonathan R. Shewchuk verwiesen [144–148].

Unter Triangulierung versteht man die Approximation komplexer Formen und Geometrien durch ein Dreiecksgitter, wie in Abbildung 2.5 dargestellt. Dadurch können beliebige Formen zurückgeführt werden auf mathematisch in der Regel sehr viel einfacher zu handhabende Dreiecke. Wie in Abbildung 2.5 zu sehen, kann die Approximation durch Erhöhung der Anzahl der Dreiecke im Prinzip beliebig genau gemacht werden. Praktisch ist die Genauigkeit jedoch z.B. durch den benötigten Speicherbedarf oder die Rechenzeit begrenzt.

Jede Triangulierung ist definiert durch eine Menge Ω_K von Punkten, genannt Knoten

$$\Omega_K = \{\vec{r}_i\}$$

und einer Menge Ω_E von Kanten

$$\Omega_E = \{\vec{e}_i\}$$

die die Knoten zu Dreiecken verbinden. Jede Kante besitzt als Anfangs- und Endpunkt jeweils einen Knoten, vgl. Abbildung 2.6

$$\vec{e}_i = \vec{r}_j - \vec{r}_k \quad \text{bzw.} \quad e_i = (r_k, r_j)$$

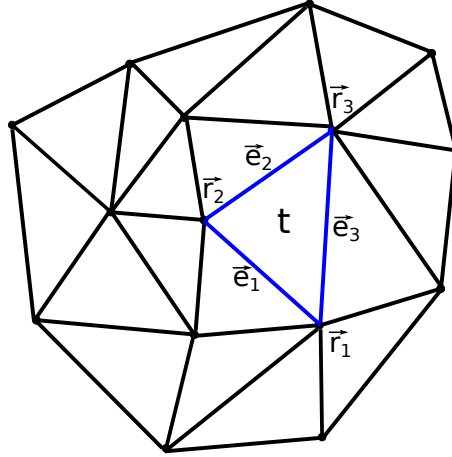


Abbildung 2.6: Schematische, lokale Darstellung einer Triangulierung zur Definition der verwendeten Bezeichnungen. Jede Triangulierung besteht aus einem Satz von Dreiecken t . Die Dreiecke wiederum bestehen aus Knoten \vec{r}_i und Kanten \vec{e}_i .

Die Menge der Knoten Ω_K alleine würde nicht ausreichen zur Definition einer Triangulierung, denn es werden immer mehrere Möglichkeiten existieren, die Knoten zu Dreiecken zu verbinden. Daher muss zusätzlich immer die Menge der Kanten Ω_E angegeben werden, die die Information enthält, wie die Knoten im konkreten Fall zu Dreiecken verbunden worden sind.

Betrachtet man das blau hervorgehobene Dreieck in Abbildung 2.6, so erkennt man Folgendes. Jedes Dreieck t besteht immer aus genau 3 Knoten $\{\vec{r}_1, \vec{r}_2, \vec{r}_3\}$ und 3 Kanten $\{\vec{e}_1, \vec{e}_2, \vec{e}_3\}$ mit

$$\vec{e}_1 = \vec{r}_2 - \vec{r}_1 \quad \vec{e}_2 = \vec{r}_3 - \vec{r}_2 \quad \vec{e}_3 = \vec{r}_3 - \vec{r}_1$$

Jede Kante wiederum besteht aus 2 Knoten und gehört zu 2 Dreiecken. Die Knoten allerdings können zu beliebig vielen Dreiecken und Kanten gehören.

Bounding-Box Trees

Die Technik der Bounding-Box Trees oder Bounding-Volume Hierarchy stammt ursprünglich aus dem Gebiet der Computergrafik und der Kollisionsüberprüfung [4, 14, 59, 72, 94]. In Computergrafikanwendungen steht man regelmäßig vor der Frage welche Objekte von einem gegebenen Standpunkt aus sichtbar sind. Dazu muss für jedes Objekt getestet werden, ob sich andere Objekte zwischen dem Beobachter und dem fraglichen Objekt befinden. Dieser Test läuft in der Regel so ab, dass für einen Strahl vom Beobachter zum Objekt geprüft wird, ob dieser Strahl andere Objekte kreuzt.

Die Kollisionsüberprüfung ist ein eng verwandtes Problem, hier steht man vor der Frage, ob sich zwei Objekte, diese können statisch sein oder sich auch bewegen, überlappen. Für komplexe Objekte sind beide Probleme numerisch sehr aufwendig und gleichzeitig kann die Zahl der zu testenden Kombinationen sehr hoch sein. Um das Problem zu vereinfachen bietet sich die Verwendung von sogenannten Bounding-Boxen an. Die Idee

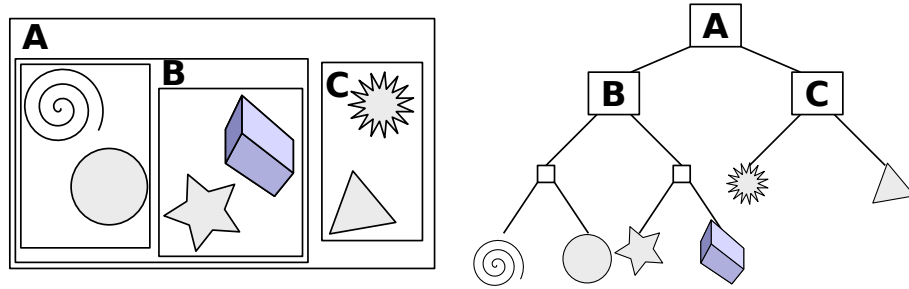


Abbildung 2.7: Illustrative Darstellung des Konzeptes der Bounding-Box Trees. Jeder Knoten speichert eine Box um alle seine Kinder. Die Endknoten enthalten die eigentlichen Objekte und der Wurzelknoten alle anderen Boxen sowie alle Objekte. Quelle: [2]

ist es, ein komplexes Objekt mit einem einfacheren Objekt zu umhüllen. Für Objekte in 3D sind dies oft Kugeln oder rechteckige Boxen. Wenn sich nun die Hüllen nicht überlappen bzw. der Strahl nicht die Hülle kreuzt, dann gilt dies auch für das Objekt in der Box. Der entscheidende Punkt ist, dass die entsprechenden Tests für Überlapp oder Kreuzen eines Strahls für Kugeln oder rechteckige Boxen sehr viel einfacher sind als für beliebig geformte Objekte. Dadurch kann die Zahl der aufwendigeren Tests für die eigentlichen Objekte oft drastisch reduziert werden.

Bei Verwendung einfacher Bounding-Boxen für jedes Objekt bleibt die Zahl der zu überprüfenden Kombinationen allerdings gleich. Hier hilft die Verwendung einer hierarchischen Baumstruktur weiter, vgl. Abbildung 2.7. Für eine Einführung in diese Form der Datenstruktur und die Operationen auf diesen Strukturen findet man in der Literatur zahlreiche Bücher [87, 134, 163]. Die Boxen um die einzelnen Objekte werden rekursiv in größere Boxen gepackt und in einer Baumstruktur gespeichert. Jeder Knoten enthält dabei eine Box um alle seine Kinder und die Boxen um die eigentlichen Objekte bilden die Endknoten des Baumes. Dieses Verfahren resultiert in einer Box am oberen Ende des Baumes, die alle Objekte und alle Boxen einschließt.

Testet man nun eine Box des Baumes auf Überlapp oder Kreuzung, so kann man im negativen Fall alles ausschließen, was sich in der Baumstruktur unterhalb des getesteten Knotens befindet. In der Folge kann die Zahl der zu testenden Kombinationen enorm reduziert werden.

Im Fall von triangulierten Objekten kann man das Spiel mit den Bounding-Boxen noch weiter treiben [1]. Man unterteilt die Box um das Objekt noch weiter in kleinere Boxen und speichert die Hierarchie der Boxen in einem Binärbaum. Das konkrete Verfahren läuft dabei folgendermaßen ab ⁶: Die Box um das Objekt wird im Wurzelknoten des Baumes gespeichert und senkrecht zu ihrer größten Ausdehnung näherungsweise in zwei Hälften geteilt. Diese zwei Hälften werden als neue Boxen in den Kinderknoten des Wurzelknotens gespeichert. Dieses Verfahren wird so lange wiederholt, bis die erzeugten Boxen nur noch ein einzelnes Dreieck enthalten. Diese Boxen bilden dann

⁶Hier werden rechteckige Boxen verwendet deren Achsen parallel zu den Achsen des Koordinatensystems sind.

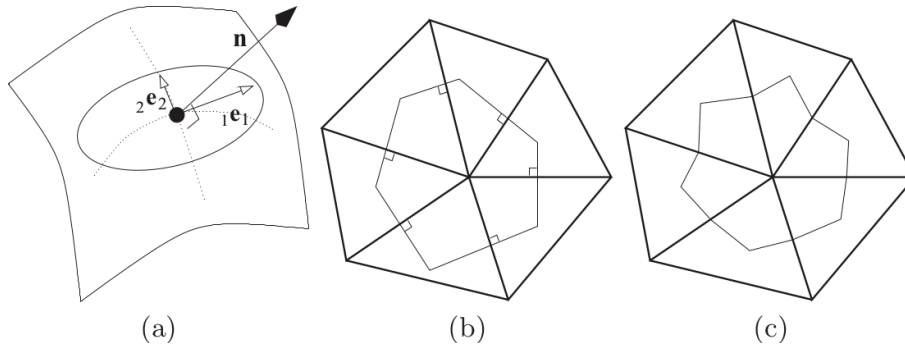


Abbildung 2.8: (a) Tangentenebene an einen Punkt für eine kontinuierliche Oberfläche mit den zwei Hauptkrümmungsrichtungen \vec{e}_1 und \vec{e}_2 sowie dem Normalenvektor \vec{n} . (b) Voronoi-Zelle um einen Knoten für eine triangulierte Fläche. (c) Barizentrische Zelle um einen Knoten für eine triangulierte Fläche. Quelle: [111]

die Endknoten des Baumes.

Neben der Anwendung bei Kollisionstests ist ein solcher Bounding-Box Tree im Fall einer geschlossenen, triangulierten Oberfläche noch für etwas anderes nützlich. Mit seiner Hilfe kann entschieden werden, ob sich ein Punkt innerhalb oder außerhalb der Oberfläche befindet. Dazu betrachtet man einen Strahl, der von dem Punkt parallel zur x-Achse ins Unendliche läuft. Die Frage, ob der Punkt innerhalb der Oberfläche liegt oder außerhalb kann dann anhand der Zahl der Schnittpunkte des Strahls mit der Oberfläche entschieden werden.

Zahl der Schnittpunkte ungerade	\Rightarrow	Punkt liegt innerhalb der Oberfläche
Zahl der Schnittpunkte gerade	\Rightarrow	Punkt liegt außerhalb der Oberfläche

Dazu müsste man alle Dreiecke der Triangulation auf einen Schnittpunkt mit dem Strahl testen. Mit Hilfe des Bounding-Box Tree kann die Zahl der Tests massiv reduziert werden. Zuerst testet man die Box um die ganze Oberfläche im Wurzelknoten des Baums. Ist der Test auf einen Schnittpunkt positiv, geht man zu den zwei Kinderknoten und testet die dort gespeicherten Boxen. Da die Boxen achsenparallel ausgerichtet sind und der Strahl ebenfalls parallel zur x-Achse verläuft bekommt man nur bei einem der beiden Kinderknoten einen Schnittpunkt. Durch Iteration dieser Vorgehensweise bleiben am Ende einige wenige Dreiecke übrig, die auf einen Schnittpunkt getestet werden müssen. Auch hier ist die Idee, dass das Testen auf einen Schnittpunkt für eine rechteckige Box sehr viel einfacher ist als für ein Dreieck.

Berechnung der diskreten Krümmung

Für stetige Oberflächen liefert die Differentialgeometrie die notwendige Beschreibung und die Verfahren zur Berechnung von Größen wie Krümmung oder Normalenvektor [19, 20]. Bei diskreten Oberflächen wie Triangulierungen müssen die entsprechenden Größen übertragen und angepasst werden. Diese Anpassung ist nicht eindeutig und es

gibt diverse Möglichkeiten dies zu tun [68, 116, 159]. Die hier dargestellte Möglichkeit wurde [111] entnommen und wurde gewählt, da sie für die Arbeit verwendet wurde. Wir beginnen mit einer Übersicht einiger Größen aus der Differentialgeometrie bevor diese dann auf diskrete Oberflächen verallgemeinert werden. Es sei S eine Fläche (2-Mannigfaltigkeit) in \mathbb{R}^3 die durch zwei Variablen parametrisiert wurde. Für jeden Punkt der Fläche kann dann die Tangentenebene und der dazu senkrecht stehende Normalenvektor \vec{n} angegeben werden, vgl. Abbildung 2.8(a). Die Normalenkrümmung $\kappa^N(\Theta)$ der Fläche in jeder Richtung \vec{e}_Θ der Tangentenebene ist dann definiert als die Krümmung der Kurve die sowohl in der Fläche selbst als auch in der Ebene die durch \vec{n} und \vec{e}_Θ aufgespannt wird, liegt. Die zwei Hauptkrümmungen κ_1 und κ_2 sind die beiden Extremwerte der Normalenkrümmung. Die zugehörigen Hauptkrümmungsrichtungen \vec{e}_1 und \vec{e}_2 liegen zueinander senkrecht. Die mittlere Krümmung κ_H ist definiert als der Mittelwert der Normalenkrümmungen.

$$\kappa_H = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} \kappa^N(\Theta) d\Theta$$

Drückt man die Normalenkrümmung durch die Hauptkrümmungen aus

$$\kappa^N(\Theta) = \kappa_1 \cos^2(\Theta) + \kappa_2 \sin^2(\Theta)$$

erhält man die gebräuchliche Definition der mittleren Krümmung:

$$\kappa_H = \frac{\kappa_1 + \kappa_2}{2}$$

Die Gaußsche Krümmung ist das Produkt der beiden Hauptkrümmungen:

$$\kappa_G = \kappa_1 \kappa_2$$

Der Laplace-Beltrami Operator \vec{K} für die Oberfläche S ist gegeben durch

$$\vec{K}(P) = 2\kappa_H(P)\vec{n}(P)$$

Dieser Operator bildet einen Punkt P der Oberfläche S auf den Vektor $\vec{K}(P)$ ab. $\vec{K}(P)$ steht also senkrecht auf der Tangentenebene im Punkt P und hat die Länge $2\kappa_H$.

Um diese Definitionen auf diskrete Oberflächen zu übertragen müssen sie modifiziert werden. Triangulationen können als lineare Approximationen von beliebigen Oberflächen angesehen werden. Obige geometrische Größen werden an jedem Knoten als räumliche Mittelwerte um diesen Knoten definiert. Werden diese Mittelungen konsistent durchgeführt, so konvergieren die gemittelten Größen gegen die punktweise Definition wenn die Triangulierung verfeinert wird. So können die Definitionen für Krümmung oder Flächennormalen vom kontinuierlichen Fall auf diskrete Gitter übertragen werden. Die Bildung der Mittelwerte wird dabei auf die Dreiecke in direkter Nachbarschaft eines Knotens beschränkt, diese wird auch als 1-Ring Nachbarschaft bezeichnet (Abbildung 2.9(a)).

Es soll nun für einen Knoten i das Integral von \vec{K} über eine Fläche A_M berechnet

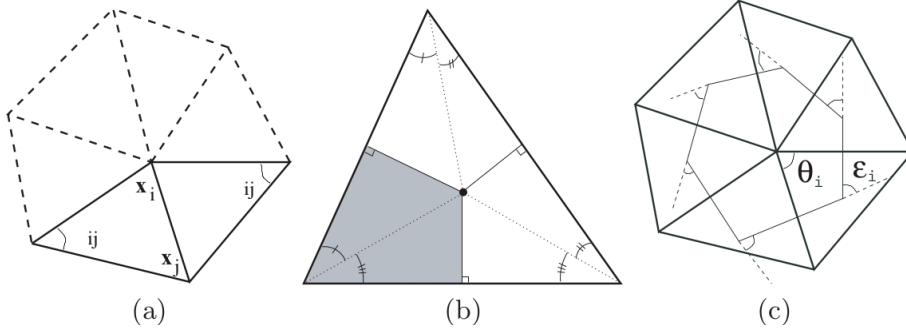


Abbildung 2.9: (a) 1-Ring Nachbarschaft eines Knotens und die einer Kanten gegenüberliegende Winkel. (b) Voronoi-Regionen für ein nicht-stumpfes Dreieck. (c) Äußere Winkel eines Voronoi-Diagramms. Quelle: [111]

werden, wobei A_M vollständig in der 1-Ring Nachbarschaft des betrachteten Knotens i liegen soll. Dieses Integral entspricht der Mittelung von \vec{K} über die Fläche A_M . Der Laplace-Beltrami Operator ist die Verallgemeinerung der Laplace-Operators auf beliebige Mannigfaltigkeiten. Verwendet man die Diskretisierung der Oberfläche als Parameterraum, so reduziert sich der Laplace-Beltrami Operator für jedes Dreieck zum einfachen Laplace-Operator, da die Dreiecke ihrerseits flache Flächen darstellen [166].

$$\int \int_{A_M} \vec{K}(\vec{x}) dA = - \int \int_{A_M} \Delta_{u,v} \vec{x} du dv \quad (2.52)$$

Unter Verwendung des Gaußschen Satzes reduziert sich das Integral zu (für eine detaillierte Herleitung siehe [111])

$$\int \int_{A_M} \vec{K}(\vec{x}) dA = \frac{1}{2} \sum_{j \in N_1(i)} (\cot \alpha_{ij} + \cot \beta_{ij}) (\vec{x}_i - \vec{x}_j) \quad (2.53)$$

$N_1(i)$ ist dabei die Menge der Knoten, die die 1-Ring Nachbarschaft des Knotens i bilden. α_{ij} und β_{ij} sind die Winkel, die gegenüber der Kante (\vec{x}_i, \vec{x}_j) in den zwei angrenzenden Dreiecken liegen, vgl. Abbildung 2.9(a).

Es bleibt noch die Fläche A_M zu bestimmen über die die Bildung des Mittelwertes ausgeführt wird. Es zeigt sich, dass für diese Wahl die Voronoi-Zelle [13] (Abbildungen 2.8(b) und 2.9(b,c)) um den Knoten i optimal ist, da so der Fehler zwischen der räumlichen Mittelung und dem punktwise definierten Wert möglichst klein gehalten wird. Für die Fläche der Voronoi-Zelle eines Knotens i erhält man:

$$A_M = A_V = \frac{1}{8} \sum_{j \in N_1(i)} (\cot \alpha_{ij} + \cot \beta_{ij}) |\vec{x}_i - \vec{x}_j|^2 \quad (2.54)$$

Hier muss allerdings eine Einschränkung gemacht werden, ist in der 1-Ring Nachbarschaft des Knotens ein stumpfes Dreieck, so reicht die Voronoi-Zelle über den 1-Ring hinaus. In diesem Fall muss die Berechnung der Fläche für das stumpfe Dreieck angepasst werden. Auf diesen Fall soll hier nicht näher eingegangen werden, für Details

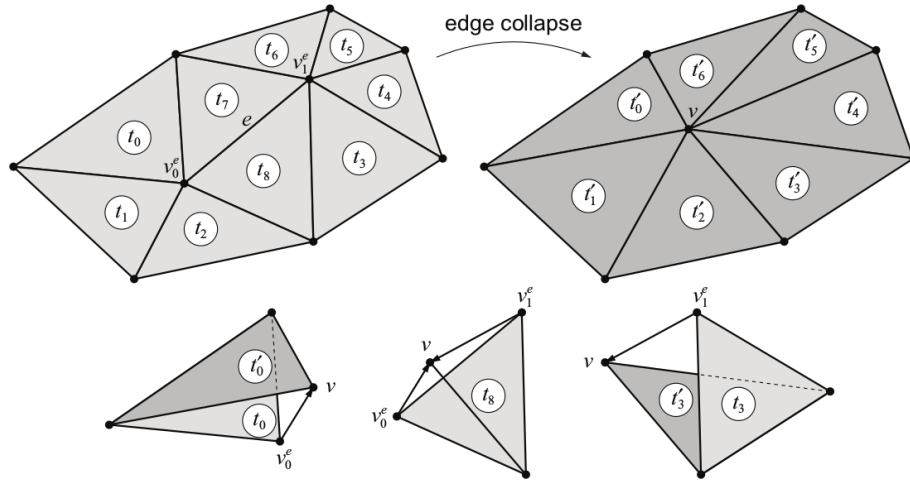


Abbildung 2.10: Veranschaulichung der Knotenreduktion für eine triangulierte Oberfläche. Die Kante e wird entfernt und ihre zugehörigen Knoten verschmelzen zu einem einzigen Knoten. Die benachbarten Kanten und Dreiecke werden entsprechend angepasst. Quelle: [96]

wird auf [111] verwiesen.

In jedem Fall erhält man den Mittelwert von \vec{K} dann einfach indem man Gleichung 2.53 durch die ermittelte Fläche A_M teilt:

$$\vec{K}(\vec{x}_i) = \frac{1}{2A_M} \sum_{j \in N_1(i)} (\cot \alpha_{ij} + \cot \beta_{ij}) (\vec{x}_i - \vec{x}_j) \quad (2.55)$$

Dies liefert eine Definition für \vec{K} im Falle triangulierter Oberflächen. Die mittlere Krümmung am Knoten \vec{x}_i erhält man dann einfach durch Berechnung des halben Betrages von $\vec{K}(\vec{x}_i)$.

Knotenreduktion bei Polygonmodellen

In verschiedenen Anwendungen werden immer größere Polygonmodelle erzeugt, z.B. medizinische Scanner wie CT oder MRT, Satellitenradar oder Computergrafik. Es ist daher zwecks Darstellbarkeit von Interesse Methoden zu entwickeln, die solche Modelle vereinfachen ohne ihre Erscheinung zu verändern, wobei Vereinfachen hier bedeutet, dass das bearbeitete Modell weniger Dreieck bzw. Polygone als das Original besitzt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Verfahren zur Knotenreduktion verwendet um Triangulierungen mit möglichst homogener Knotendichte zu erhalten. Auch hier gibt es eine ganze Reihe von Verfahren eine solche Vereinfachung durchzuführen, einen Überblick und Vergleich einiger Methoden findet man in [96]. Die im Folgenden dargestellte Methode ist [95] entnommen.

Der Algorithmus ist erinnerungslos, d.h. er berechnet die Vereinfachung des Modells in jedem Schritt alleine aus der aktuellen Konfiguration ohne Hinzunahme von Informationen des Originalmodells oder vorheriger Konfigurationen. Die Vereinfachung

geschieht dabei durch den Kollaps einer Kante. Die zwei Knoten dieser Kante werden durch einen Knoten ersetzt. Um die zu löschende Kante zu bestimmen, werden alle Kanten anhand einer Kostenfunktion in einer Prioritätenliste angeordnet. Die Kante mit den geringsten Kosten wird dann ausgewählt, ihre zwei Knoten durch einen Knoten ersetzt und anschließend werden die Kosten für alle Kanten, die durch den Kollaps der ausgewählten Kante verändert wurden, neu berechnet. Dann wird die Prioritätenliste aktualisiert und das Verfahren wiederholt sich mit der jetzt an erster Stelle der Liste stehenden Kante.

Das konkrete Verfahren zur Vereinfachung hat also hauptsächlich zwei Dinge zu leisten. Das Auswählen einer Kostenfunktion zur Anordnung der Kanten in der Prioritätenliste und die Berechnung des neuen Knotens, der die zwei Knoten der gelöschten Kante ersetzt. Dies kann als Optimierungsproblem betrachtet werden. Ist eine Kostenfunktion $f_C(e, v)$ gegeben, die die Kosten bestimmt, wenn die Kante e durch den Knoten v ersetzt wird, so wird v so bestimmt, dass f_C minimal wird. Führt man dies für jede Kante aus, so erhält man für jede Kante einen Wert für die Kosten des Kollaps.

Wenn eine Kante e gelöscht wird, ändert sich im allgemeinen die Form des Modells und auch das eingeschlossene Volumen wird verändert. Der Algorithmus aus [95] erhält das Volumen des Modells in folgendem Sinne. Dazu betrachtet man, wie der Kollaps einer Kante das Volumen des Modells beeinflusst, veranschaulicht in Abbildung 2.10. Wird ein Dreieck $t = (v_0^e, v_1^t, v_2^t)$ durch ein Dreieck $t' = (v, v_1^t, v_2^t)$ ersetzt, so wird von t ein Volumen überstrichen, wenn v_0^e entlang einer Geraden zu v wandert. Dieses Volumen entspricht dem Tetraeder (v, v_0^e, v_1^t, v_2^t) . Ist v außerhalb des ursprünglichen Modellvolumens, so wird das Tetraedervolumen positiv gezählt und das Volumen des Modells vergrößert sich lokal bei t . Ist v im gegenteiligen Fall innerhalb des ursprünglichen Modellvolumens, so wird die Volumenänderung negativ gezählt und das Volumen des Modells schrumpft. Um in diesem Sinne das gerichtete Volumen des Modells zu erhalten, soll die Gesamtänderung dieses Volumens verschwinden. Man setzt

$$\sum_i V(v, v_0^{t_i}, v_1^{t_i}, v_2^{t_i}) = \sum_i \frac{1}{6} \begin{vmatrix} v_x & v_{0_x}^{t_i} & v_{1_x}^{t_i} & v_{2_x}^{t_i} \\ v_y & v_{0_y}^{t_i} & v_{1_y}^{t_i} & v_{2_y}^{t_i} \\ v_z & v_{0_z}^{t_i} & v_{1_z}^{t_i} & v_{2_z}^{t_i} \\ 1 & 1 & 1 & 1 \end{vmatrix} = 0 \quad (2.56)$$

und löst die Gleichung nach v auf.

Die Summe läuft über alle Dreiecke, die durch die Löschung der Kante e verändert werden. Gleichung 2.56 kann umgeschrieben werden zu

$$\sum_i (v_0^{t_i} \times v_1^{t_i} + v_1^{t_i} \times v_2^{t_i} + v_2^{t_i} \times v_0^{t_i})^T v = \sum_i n_i^T v = 0 \quad (2.57)$$

wobei n_i die äußere Flächennormale des Dreiecks t_i ist, deren Länge der doppelten Fläche des Dreiecks t_i entspricht. Gleichung 2.57 hat die Form einer Ebenengleichung, die Position des neuen Knotens v ist also durch diese Gleichung nur auf eine Ebene beschränkt. Um die Position eindeutig zu bestimmen müssen also weitere Forderungen gestellt werden. Dies geschieht hier, indem man fordert, dass die Änderung des ungerichteten Volumens für jeden Tetraeder minimal wird. Es muss also das Minimum der

Funktion

$$f_V(e, v) = \sum_i V(v, v_0^{t_i}, v_1^{t_i}, v_2^{t_i})^2 \quad (2.58)$$

bezüglich v gefunden werden. Gleichung 2.58 kann ebenfalls ungeschrieben werden zu

$$f_V(e, v) = \frac{1}{18} \left[\frac{1}{2} v^T \left(\sum_i n_i n_i^T \right) v - \sum_i (n_i^T v) n_i^T v + \frac{1}{2} \sum_i (n_i^T v)^2 \right] \quad (2.59)$$

Die Position des neuen Knotens v findet man durch Berechnung des Minimums von Gleichung 2.59 unter Beachtung der Randbedingung aus Gleichung 2.57. Die Funktion f_V dient dabei als Kostenfunktion zur Anordnung der Knoten in der Prioritätenliste. Die Position des Knotens v ist damit optimal bezüglich der durch f_V definierten Kosten. Tritt der Fall ein, dass die Oberfläche lokal eben ist, so ist $f_V = 0$ falls Gleichung 2.57 erfüllt ist und v kann in der Ebene frei gewählt werden. Für diesen Fall soll die Position so gewählt werden, dass die resultierende Triangulation möglichst gleichmäßig ist. Als Maß für die Qualität der Dreiecke wird die quadratische Länge ihrer Kanten gewählt.

$$f_S(e, v) = \sum_i L^2(v, v_i) \quad (2.60)$$

Die Summe läuft über alle Kanten, die v als Endpunkt besitzen. Durch Minimierung dieser Funktion wird die Qualität der Dreiecke maximiert. Es werden so Dreiecke verhindert, die sehr lange oder sehr kurze Kanten haben. Umgeschrieben erhält man für Gleichung 2.60:

$$f_S(e, v) = 2 \left[\frac{1}{2} v^T \sum_i \mathbb{I} v - \sum_i v_i^T v + \frac{1}{2} \sum_i v_i^T v_i \right] \quad (2.61)$$

Durch Minimierung von Gleichung 2.61 wieder unter Beachtung der Einschränkung aus Gleichung 2.57 kann dann die Position von v eindeutig bestimmt werden.

2.2.4 Federnetzwerkmodelle

Federnetzwerkmodelle finden sich in der Literatur vor allem zur Beschreibung der Membran von roten Blutkörperchen [48, 70, 71]. Daneben gibt es aber auch völlig andere Ansätze, z.B. die Simulation von Herzklappengewebe mittels Federnetzwerken [69]. Die Energie der Membran ergibt sich dabei durch Deformationen innerhalb der Oberfläche die durch Spannungen hervorgerufen werden (Verzerrungsenergie). Die Energiedichte für ein Netzwerk von Federn der Fläche A kann geschrieben werden als Summe der einzelnen Federenergien welche gegeben sind als Produkt aus Federkraft F_j und der Auslenkung der Feder ΔL_j

$$\Psi = \frac{1}{2A} \sum_j F_j \Delta L_j \quad (2.62)$$

Ein allgemeinerer Zusammenhang zwischen Deformation, Spannung und Energie kann als

$$S_{ij} = \frac{\partial W}{\partial E_{ij}} \quad (2.63)$$

ausgedrückt werden. Dabei ist S der Piola-Kirchhoff Spannungstensor, E der Green Deformationstensor und W die Deformationsenergie.

2.2.5 Curvature-Modell

Das Curvature-Modell ist eine Möglichkeit die freie Energie einer Membran auszudrücken [73, 98]. Dieses Modell findet sich in der Literatur für die verschiedensten Zwecke, z.B. die Entstehung von Membrannanoröhren [28].

Wählt man ein Ensemble, in dem Druck $p = p_{out} - p_{in}$ (Differenz des Drucks außerhalb und innerhalb der Membran) und Oberflächenspannung σ fixiert sind, was für lebende Zellen der Fall ist, so ergibt sich die freie Energie einer Membran zu

$$F = \int_A \frac{\kappa}{2} (2H)^2 + \kappa_G K dA + \sigma A + pV \quad (2.64)$$

Dabei ist κ die Biegesteifigkeit der Membran und H die mittlere Krümmung, κ_G ist der Gauß'sche Krümmungsmodulus und K die Gauß'sche Krümmung. Das Curvature-Modell liefert eine einfache Erklärung für die Tatsache, dass Membrane dazu tendieren Vesikel zu bilden.

Ein Membransegment der Länge L hat eine Oberflächenenergie proportional zu dieser Länge. Wenn das Segment ein Vesikel bildet ist seine Energie gegeben durch $4\pi(2\kappa + \kappa_G)$. Dieser Ausdruck hängt nicht mehr von der linearen Ausdehnung L ab. Daher kann für große L die Membran ihre Energie durch Bildung einer geschlossenen Oberfläche minimieren.

2.3 Simulationstechniken

In diesem Abschnitt wird ein kurzer Überblick über verschiedene Simulationstechniken gegeben werden, die allgemein unter dem Begriff Monte-Carlo-Verfahren zusammengefasst werden. Bei diesen Verfahren handelt es sich um stochastische Algorithmen zur Simulation physikalischer Systeme, die auf Grund ihrer Komplexität oder Größe nicht analytisch exakt berechnet werden können. Monte-Carlo-Verfahren wurden auch verwendet um die in der Arbeit entwickelten Modelle zu simulieren.

Dabei ist zwischen Verfahren für Systeme im thermischen Gleichgewicht (z.B. Metropolis-Algorithmus) und solchen für Systeme fern vom Gleichgewicht (z.B. Gillespie-Algorithmus) zu unterscheiden. Die im folgenden gegebene Übersicht stellt die wichtigsten dieser Verfahren dar ohne einen Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben.

2.3.1 Monte-Carlo-Verfahren für Systeme im thermischen Gleichgewicht

$$\frac{\partial}{\partial t}P(C, t) = \sum_{C' \neq C} P(C', t)\omega(C' \rightarrow C) - \sum_{C' \neq C} P(C, t)\omega(C \rightarrow C') \quad (2.65)$$

In der statistischen Physik wird zur Beschreibung eines Systems die Wahrscheinlichkeit herangezogen, das System zur Zeit t im Zustand C zu finden und mit $P(C, t)$ bezeichnet. Der Zustand C beschreibt dabei die mikroskopische Konfiguration des Systems.

Die zeitliche Entwicklung der Wahrscheinlichkeit $P(C, t)$ wird dabei, wie bereits in Kapitel 2.1 erwähnt, durch die Master-Gleichung 2.65 beschrieben, wobei $\omega(C' \rightarrow C)$ die Übergangsrate (Wahrscheinlichkeit pro Zeit) von Zustand C' in Zustand C angibt. In der Regel ist man bei der Untersuchung von stochastischen Systemen an stationären Zuständen interessiert, für diese gilt:

$$\frac{\partial}{\partial t}P(C, t) = 0 \quad (2.66)$$

Die Wahrscheinlichkeiten $P(C, t)$ werden also zeitunabhängig. Die stationären Zustände lassen sich allerdings nur selten analytisch berechnen und man muss zu ihrer Untersuchung auf Simulationstechniken wie z.B. Monte-Carlo-Simulationen [85, 117] zurückgreifen. Zuerst wollen wir uns in diesem Zusammenhang mit thermischen Gleichgewichtszuständen beschäftigen. Im Kontext der Master-Gleichung sind diese Zustände durch die sogenannte detaillierte Bilanz 2.67 definiert.

$$P(C')\omega(C' \rightarrow C) = P(C)\omega(C \rightarrow C') \quad \forall \quad C, C' \quad (2.67)$$

Der Wahrscheinlichkeitsfluss zwischen je zwei Zuständen ist hier ausgeglichen und es existieren keine makroskopischen Ströme. Die Umsetzung der Monte-Carlo-Verfahren im Computer erfolgt meist durch die Verwendung von Markov-Ketten. Ausgehend von einer beliebigen Startkonfiguration C_0 werden mit Hilfe von Übergangswahrscheinlichkeiten $p(C_i \rightarrow C_{i+1})$ weitere Konfigurationen erzeugt. Die Wahrscheinlichkeiten $p(C_i \rightarrow C_{i+1})$ müssen dabei so gewählt werden, dass Gleichung 2.67 erfüllt ist (mit $p(C \rightarrow C') = \omega(C \rightarrow C')dt$).

Dies kann durch den Metropolis-Algorithmus [108, 109] sichergestellt werden.

$$p(C_i \rightarrow C_{i+1}) = \min \left\{ 1, \frac{P(C_{i+1})}{P(C_i)} \right\} \quad (2.68)$$

Der Quotient $\frac{P(C_{i+1})}{P(C_i)}$ ist dabei für Systeme im thermischen Gleichgewicht bekannt, denn es gilt die Boltzmann-Statistik [139]

$$P(C) = \frac{1}{Z} \exp(-\beta E(C)) \quad (2.69)$$

mit der Energie $E(C)$ und der Zustandssumme

$$Z = \sum_C \exp(-\beta E(C)) \quad (2.70)$$

Die Mittelwerte makroskopischer Observablen Q ergeben sich dann durch

$$\langle Q \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N Q(C_i) \quad (2.71)$$

wobei $Q(C_i)$ den Wert der Observablen Q im Zustand C_i bezeichnet und N die Anzahl der Konfigurationen über die die Mittelwertbildung erfolgt. Es sollten hier nicht alle erzeugten Konfigurationen für die Mittelwertbildung herangezogen werden sondern die ersten X Konfigurationen unberücksichtigt bleiben, damit das System ausgehend von der Startkonfiguration C_0 den Gleichgewichtszustand erreichen kann und die berechneten Mittelwerte unabhängig von C_0 werden. Die Größe X ist dabei davon abhängig, wie schnell das jeweils betrachtete System ins Gleichgewicht relaxiert.

Als weitere Voraussetzung für die Anwendung des beschriebenen Verfahrens ist die Ergodizität des Systems zu nennen, d.h. jede Konfiguration C muss innerhalb der Markov-Kette von jeder anderen Konfiguration C' durch eine endliche Anzahl von Schritten erreichbar sein.

2.3.2 Verfahren für Gittergase

Im vorherigen Abschnitt wurde ein Monte-Carlo Verfahren zur Simulation von Systemen im thermischen Gleichgewicht vorgestellt. Nun wollen wir uns mit einer Simulationstechnik für Systeme fern vom Gleichgewicht beschäftigen. Bevor wir zur allgemeinen Form des Gillespie-Algorithmus kommen, wollen wir uns zuerst mit den speziellen Verfahren zur Simulation von Gittergasen wie dem ASEP beschäftigen. Eine detaillierte Analyse dazu kann in [130] nachgelesen werden, wir wollen hier nur näher auf das sogenannte „Random Sequential Update Schema“ für den offenen TASEP eingehen. Dabei wird in jedem MC-Schritt zufällig ein Teilchen i ausgewählt. Ist der nächste Platz unbesetzt, so springt das Teilchen mit der Wahrscheinlichkeit pdt nach rechts. Befindet sich das ausgewählte Teilchen auf dem letzten Gitterplatz, so wird es mit Wahrscheinlichkeit βdt aus dem System entfernt.

Um bei diesem Verfahren Teilcheneintritt zu ermöglichen wird am linken Rand ein „dummy“ Teilchen eingefügt. Falls dieses Teilchen ausgewählt wird, betritt ein Teilchen mit Wahrscheinlichkeit αdt das System, vorausgesetzt der Platz $i = 1$ ist unbesetzt.

Um eine möglichst effiziente Simulation zu gewährleisten, wird $dt = 1/p$ gewählt womit $pdt = 1$ gilt. Da jedoch in jedem Zeitschritt jedes Teilchen im Mittel einmal ausgewählt werden muss, darf die Zeit nach jedem MC-Schritt nur um $dt' = dt/N = 1/(Np)$ erhöht werden, wobei N die Zahl der Teilchen im System zum betrachteten Zeitpunkt ist. Der Zeitschritt ist damit nicht konstant sondern abhängig von der Teilchenzahl. Zur Berechnung der Mittelwerte $\langle \tau_i \rangle$ muss daher jede Konfiguration mit ihrer Lebensdauer

dt' gewichtet werden.

$$\langle \tau_i \rangle = \frac{1}{T_2 - T_1} \sum_{T_1}^{T_2} \tau_i(t) dt'(t) \quad (2.72)$$

Im Gegensatz zum vorher beschriebenen Verfahren für Gleichgewichtssysteme bei dem Konfigurationen gemäß ihrem Boltzmann-Gewicht erzeugt wurden, entspricht diese Methode einer direkten Simulation der Master-Gleichung.

2.3.3 Gillespie-Algorithmus

Der Gillespie-Algorithmus ist ein generelles Verfahren zur stochastischen Simulation von Systemen, die durch Übergangsraten zwischen den möglichen Zuständen charakterisiert sind, dazu gehören z.B. chemische Reaktionen aber auch Transportprozesse in Zellen. Der Algorithmus ist exakt, d.h. die von ihm erzeugten Pfade durch den Konfigurationsraum haben das korrekte statistische Gewicht. Mathematisch gesehen ist dieser Pfad eine Markov-Kette in kontinuierlicher Zeit.

Wir wollen uns hier auf die Variante des Algorithmus für zeitunabhängige Raten beschränken [54, 55, 57]. Für die Variante mit zeitabhängigen Raten wird auf die Literatur verwiesen [56, 127].

Wir betrachten ein System mit einer beliebigen Anzahl von möglichen Zuständen N ⁷. Zusätzlich gibt es einen Satz von M_i Übergangsraten ν_{ik} , die den Übergang von Zustand X_i in Zustand X_k beschreiben. Die Zahl der von einem Zustand X_i aus erreichbaren Zustände X_k kann vom aktuellen Zustand X_i abhängen, daher ist auch die Zahl der Übergangsraten abhängig vom Zustand.

Die zentrale Aussage des Gillespie-Algorithmus ist nun, dass die Wahrscheinlichkeitsdichte dafür, dass der nächste Übergang im Zeitintervall $[t + \tau, t + \tau + d\tau]$ stattfindet und von der Art ν ist, gegeben ist durch

$$P(\tau, \mu) d\tau = \nu_{i\mu} \exp \left(- \sum_{k=1}^{M_i} \nu_{ik} \tau \right) \quad (2.73)$$

mit $0 \leq \tau < \infty$ und $1 \leq \mu \leq M_i$.

Die konkrete Umsetzung des Gillespie-Algorithmus erzeugt Übergänge zwischen den Zuständen des Systems gemäß dieser Verteilung und kann wie folgt aussehen:

1. Initialisiere das System durch die Wahl eines Anfangszustandes $X_{i=0}$ und setze $t = 0$.
2. Erzeuge eine Liste aller möglichen Übergangsraten ν_{ik} und berechne die Summen $A_{ij} = \sum_{k=1}^j \nu_{ik}$ mit der totalen Summe $A_0 = A_{iM_i} = \sum_{k=1}^{M_i} \nu_{ik}$

⁷Ein solcher Zustand kann auch eine vektorielle Größe sein, z.B. im Falle chemischer Reaktionen wird jeder Zustand durch die Anzahl Y_i der Teilchen von Sorte S_i spezifiziert.

3. Erzeuge zwei gleichverteilte Zufallszahlen $r_1, r_2 \in [0, 1]$

4. Setze $\tau = 1/A_0 \ln(1/r_1)$ und wähle μ sodass gilt:

$$\sum_{k=1}^{\mu-1} \nu_{ik} < r_2 A_0 \leq \sum_{k=1}^{\mu} \nu_{ik}$$

5. Führe den Übergang $\nu_{i\mu}$ aus, d.h. $X_i \rightarrow X_\mu$ und setze $t = t + \tau$.

6. Gehe wieder zu Schritt 2 oder stoppe die Simulation wenn eine vorgegebene Zeit t_{max} erreicht wurde.

Dadurch wird eine Sequenz von Zeiten und zugehörigen Zuständen erzeugt, aus diesen lassen sich dann die Mittelwerte von makroskopischen Observablen des Systems berechnen.

Anmerkung1: Da der Mittelwert von $\ln(1/r_1) = 1$ ist kann die gleiche mittlere Zeitskala durch die Wahl $\tau = 1/A_0$ erzeugt werden. Daher ist das im vorherigen Abschnitt vorgestellte Verfahren für Gittergase eine angepasste Form des Gillespie-Algorithmus, denn dort gilt $A_0 = Np$ und damit $\tau = dt = 1/A_0 = 1/(Np)$.

Anmerkung2: Sowohl der Gillespie-Algorithmus als auch das Random Sequential Update sind Verfahren zur Simulation von stochastischen Prozessen in kontinuierlicher Zeit. Das Random Sequential Update ist allerdings nur dann exakt, wenn der Zeitschritt zwischen zwei Updates sehr klein ist. Denn nur dann erhält man für die Verteilung der Zeit zwischen zwei Updates eines gegebenen Teilchens eine exponentielle Verteilung.

Kapitel 3

Biologischer Hintergrund

In diesem Kapitel wird ein kurzer Überblick über die für diese Arbeit relevanten biologischen Teilbereiche gegeben. Dies ist zum einen der Bereich intrazellulärer Transport und zum anderen die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen. Dabei werden wir uns auf die Aspekte beschränken, die zum Verständnis der in dieser Arbeit behandelten Modelle nötig sind.

3.1 Intrazellulärer Transport

Eukariotische Zellen sind komplexe Gebilde mit vielen verschiedenen Bestandteilen [6]. Für uns von besonderem Interesse ist das Cytoskelett, ein verzweigtes, dynamisches Netzwerk von Filamenten innerhalb der Zelle, das unter anderem für die Stabilität der Zelle und Transportvorgänge innerhalb der Zelle eine entscheidende Rolle spielt.

Das Cytoskelett besteht aus drei verschiedenen Arten von Filamenten: Mikrotubuli, Aktinfilamente und Intermediärfilamente [6]. In dieser Arbeit wollen wir uns auf Mikrotubuli und Aktinfilamente konzentrieren. Mikrotubuli sind entscheidend für langreichweitigen, intrazellulären Transport während das Aktinnetzwerk zusammen mit den Intermediärfilamenten für die Form und Stabilität der Zelle wichtig ist.

Ebenfalls von Interesse sind Molekulare Motoren, dies sind Proteine, die sich entlang der Mikrotubuli und Aktinfilamente bewegen können und einen weiteren Bestandteil im Transportsystem der Zelle darstellen.

3.1.1 Mikrotubuli

Mikrotubuli (MTs) sind Polymere die aus α/β -Tubulin Heterodimeren aufgebaut sind [7]. Jedes Heterodimer hat dabei eine Länge von 8 nm und ist aus einem α -Tubulin und einem β -Tubulin aufgebaut (Abbildung 3.1).

Die Tubulin-Dimere können spontan zu Protofilamenten polymerisieren. Dreizehn dieser Protofilamente bilden dann einen Mikrotubulus in Form eines Hohlzylinders von 25 nm Durchmesser (Abbildung 3.1) und einer Länge von bis zu einigen hundert Mikrometern. Durch diesen strukturellen Aufbau sind Mikrotubuli einerseits in der Lage thermischen Fluktuationen und mechanischem Stress zu widerstehen gleichzeitig aber auch flexibel genug um schnell ihre Form zu ändern.

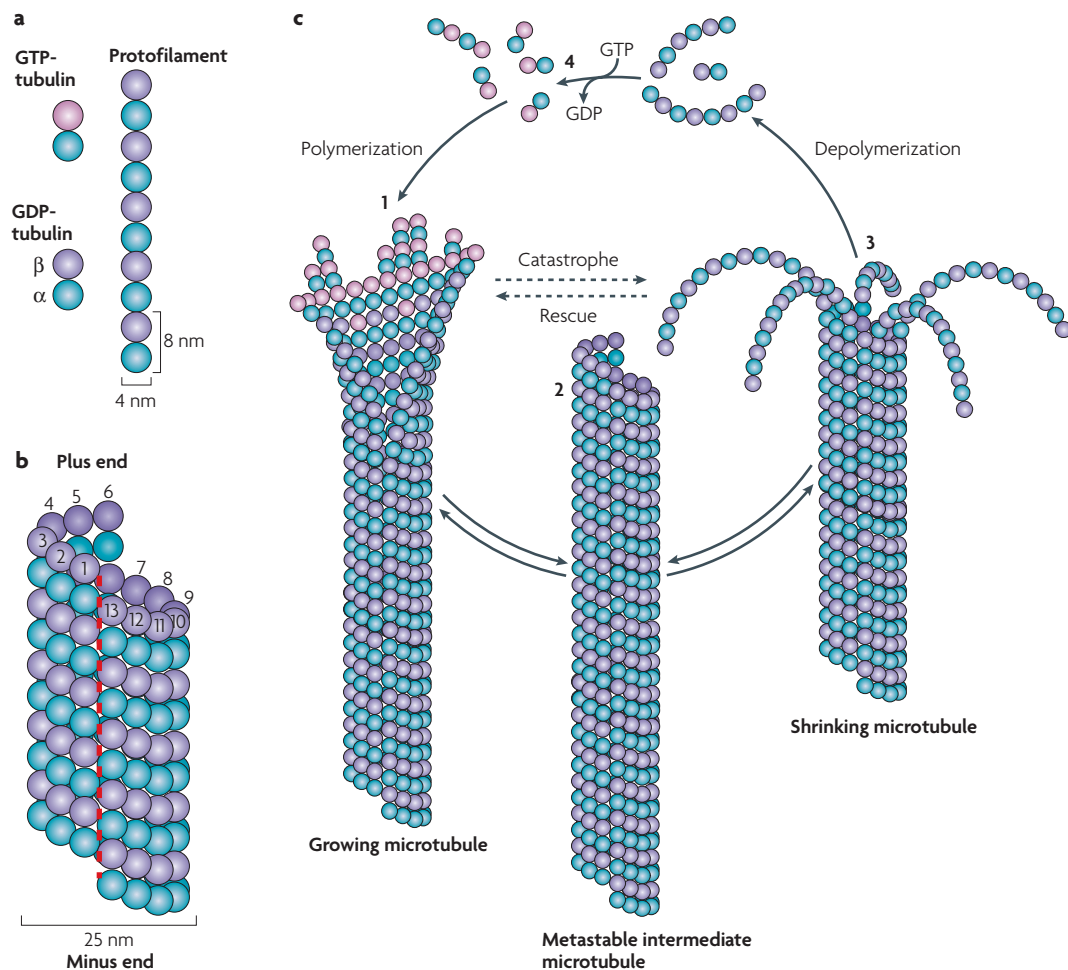


Abbildung 3.1: a) Protofilament mit den α/β -Tubulin Dimeren, sowohl GTP und GDP gebunden. b) 13 Protofilamente bilden einen Hohlzylinder, den Mikrotubulus. c) Dynamischer Instabilitätszyklus eines Mikrotubulus. Die Mikrotubuli wechseln zwischen Phasen der Polymerisation und der Depolymerisation. Der Übergang von Polymerisation zu Depolymerisation wird *Katastrophe* genannt, der Wechsel von Depolymerisation zu Polymerisation *Rettung*. Im wachsenden Zustand polymerisiert der Mikrotubulus mit GTP-gebundenen Dimeren, das GTP hydrolysiert im weiteren Verlauf zu GDP. Die Polymerisation kann stoppen und sich umkehren, der Mikrotubulus beginnt zu depolymerisieren. Die GDP-gebundenen Dimere im Cytosol können ihr GDP durch GTP ersetzen und dann in einen weiteren Mikrotubulus polymerisieren. Quelle: [5]

Auf Grund der Asymmetrie der Tubulin-Untereinheiten sind die Mikrotubuli sowohl lokal als auch global polar, d.h. beide Enden sind chemisch verschieden und können unterschieden werden [5]. Gewöhnlich wird das Ende des Filamentes mit β -Tubulin Plus-Ende genannt und dasjenige mit α -Tubulin Minus-Ende. Die Eigenschaft der Polarität spielt eine wichtige Rolle beim Transport über die Mikrotubuli, da dadurch die Bewegungsrichtung der Molekularen Motoren bestimmt wird.

Das dynamische Verhalten der Mikrotubuli ist geprägt von einer Eigenschaft, die dynamische Instabilität genannt wird [113]. Dabei wechselt der Mikrotubulus stochastisch zwischen Phasen des Wachstums (Polymerisation) und des Schrumpfens (Depolymerisation). Der Übergang von Wachstum zu Schrumpfen wird *Katastrophe* genannt, der umgekehrte Vorgang *Rettung*. Die beiden Enden der Mikrotubuli haben dabei unterschiedliche Eigenschaften. *In Vivo* ist das Minus-Ende in der Regel am sogenannten *Microtubule Organizing Center* (MTOC) verankert wodurch jegliche Dynamik am Minus-Ende unterdrückt wird. Die Dynamik findet dann ausschließlich am Plus-Ende statt wobei die Raten für Katastrophe und Rettung eher klein sind. Die Mikrotubuli wachsen und schrumpfen daher auf einer Längenskala in der Größenordnung des Zelldurchmessers. Dadurch wird die Dynamik stark durch die Wechselwirkung mit der Zellmembran beeinflusst [38].

Eine entscheidende Rolle in der Dynamik der Mikrotubuli spielen *Guanosintriphosphat* (GTP) und *Guanosindiphosphat* (GDP). Tubulin Dimere, die in einen Mikrotubulus eingebaut werden, sind an GTP Moleküle gebunden. Nach der Polymerisation der Tubulin-Dimere in den Mikrotubulus hydrolysiert eines der GTP Moleküle zu GDP. Daher findet man am Plus-Ende eine *GTP-Kappe*. Diese Kappe stabilisiert den Mikrotubulus und verhindert meistens eine Depolymerisation.

Die Nukleation der Mikrotubuli findet in der Regel am MTOC [18] statt, wo ein γ -Tubulin Ring das Minus-Ende vor Depolymerisation schützt. Vom MTOC, das in der Nähe des Zellkerns liegt, wachsen die Mikrotubuli in Richtung Zellwand, daher sind sie als *Straßen* für intrazellulären, langreichweitigen Transport bestens geeignet.

3.1.2 Aktinfilamente

Die zweite Klasse von Filamenten, die hier von Interesse sind, sind Aktinfilamente. Diese bestehen lediglich aus zwei Protofilamenten und sind daher viel flexibler als Mikrotubuli. Sie bilden jedoch hochvernetzte Gitter und sind entscheidend dafür, der Zelle ihre Form und mechanische Widerstandskraft zu geben. Das Aktinnetzwerk spielt auch eine wichtige Rolle in der Zellfortbewegung.

Aktinfilamente sind wie Mikrotubuli polar. Sie besitzen ein wachsendes Plus-Ende und ein Minus-Ende, an dem das Filament depolymerisiert. Es gibt für Aktinfilamente kein zum MTOC analoges Gebilde, sie sind also nicht an eine Struktur gebunden sondern zeigen eine *Treadmilling* [40] genannte Eigenschaft. Dabei polymerisiert das Filament am Plus-Ende und depolymerisiert am Minus-Ende wodurch sich das gesamte Filament in eine Richtung bewegt während die einzelnen Untereinheiten unbewegt bleiben. Durch dieses *Treadmilling* können Aktinfilamente eine gerichtete Kraft auf die Zellmembran ausüben und so die Membran in eine Richtung bewegen was schließlich

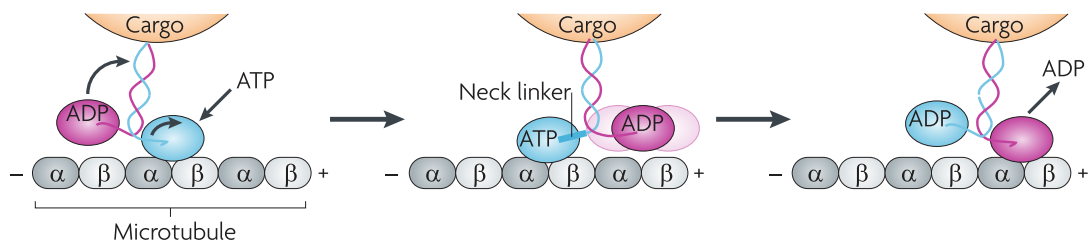


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des Fortbewegungsmechanismus eines Kinesin Motors. Die beiden Köpfe arbeiten in einem koordinierten Mechanismus um sich prozessiv auf dem Filament fortzubewegen und die Last zu transportieren. Quelle: [74]

zur Fortbewegung der gesamten Zelle führt.

Ist die ausgeübte Kraft auf eine sehr kleine Fläche konzentriert kann es anstatt zur Fortbewegung zur Ausbildung von Membranröhren kommen [28]. Dies sind quasi eindimensionale, zylindrische Objekte die aus dem Zellkörper gezogen oder gedrückt werden. Die Bildung von Membranröhren spielt eine wichtige Rolle beim Wachstum des Axons und beim Golgi Apparat.

3.1.3 Molekulare Motoren

Molekulare Motoren sind Proteine, die in der Lage sind sich entlang von polaren Filamenten zu bewegen und dabei eine Last zu transportieren. Die dafür nötige Energie bezieht der Motor aus der Hydrolyse von Adenosintriphosphat (ATP). Die Hydrolyse löst eine Konformationsänderung im Motor aus, wodurch dieser einen Schritt nach vorne macht (Abbildung 3.2). Die Motoren bestehen gewöhnlich aus zwei verschiedenen Domänen, einer Motor-Domäne, die an das Filament bindet und einer Last-Domäne, welche an die Last bindet.

Es ist zu unterscheiden zwischen prozessiven Motoren, also solchen, die eine große Anzahl von Schritten machen bevor sie sich vom Filament lösen, und nicht-prozessiven Motoren, die sich in der Regel nach einem Schritt wieder vom Filament lösen.

Im folgenden werden die zwei Motortypen vorgestellt, die für den Transport entlang von Mikrotubuli am wichtigsten sind: Kinesin und Dynein.

Kinesin

Unter dem Namen Kinesin wird eine ganze Familie von Motorproteinen zusammengefasst, die in der Regel in Richtung des Plus-Endes der Mikrotubuli (MT) laufen (anterograde Bewegung) und prozessiv sind [160, 161]. Ein typischer Vertreter der Kinesin-Familie ist Kinesin-1 welches im folgenden beschrieben wird. Daher ist von nun an immer Kinesin-1 gemeint wenn die Bezeichnung Kinesin verwendet wird.

Kinesin-1 besteht aus zwei identischen Köpfen die an die Tubulin-Dimere eines MTs binden können. Diese sind über einen langen Nacken mit der Last-Domäne verbunden, siehe Abbildung 3.2. Unter Hydrolyse von je einem ATP-Molekül führt der Motor je

einen Schritt der Länge 8 nm auf dem MT aus [21]. Kinesin ist wie bereits erwähnt ein prozessiver Motor der in Plus-Richtung läuft. Die Anzahl der Schritte bevor der Motor sich vom Filament löst liegt in der Größenordnung von einigen hundert Schritten, wodurch er Lauflängen von etwa $1\text{ }\mu\text{m}$ erreicht. Wenn der Motor sich vom Filament gelöst hat diffundiert er im umliegenden Zytoplasma bis er sich wieder an einen MT binden kann. Die Wahrscheinlichkeit mit der sich der Motor vom Filament löst wächst dabei exponentiell mit der Kraft, die die Last auf den Motor ausübt, während die Geschwindigkeit der Vorwärtsbewegung von der ATP-Konzentration abhängt.

Dynein

Der Großteil des intrazellulären Transports in Minus-Richtung wird von zytoplasmischem Dynein ausgeführt, auf welches wir uns hier beschränken wollen. Die Struktur dieses Dyneins ist komplexer als die von Kinesin und von allen molekularen Motoren sind Dyneine die Größten. Jeder der zwei Dyneinköpfe hat die Form eines Rings und besitzt einen Stiel, der an das Filament bindet [81]. Die Last ist an einen langen Schwanz gebunden, der vom MT weggerichtet ist.

Säugetierdynein, welches hier relevant ist, muss durch Dynactin oder Adapterproteine wie BicD aktiviert werden, um eine prozessive Bewegung auf dem Filament ausführen zu können [105]. Die Lauflängen erreichen dann Werte im Bereich von $1\text{ }\mu\text{m}$, vergleichbar mit Kinesin [131]. Im Gegensatz zu diesem kann Dynein Seitwärtsbewegungen auf dem Filament ausführen und zu benachbarten Protofilamenten wechseln [132]. Zusammen mit einer beobachteten variablen Schrittlänge lässt dies vermuten, dass Dynein in der Lage ist Objekte in seinem Weg zu umgehen [22].

Die Bindungsstellen von Kinesin und Dynein auf dem MT überlappen sich [114], beide Spezies konkurrieren daher um Bindungsstellen und blockieren sich womöglich gegenseitig wenn sie sich begegnen.

3.2 Adhäsion von Bakterien

Dieser Abschnitt widmet sich einer kurzen Einführung in die Biologie von bakteriellen Zellen und der Kräfte, die für die Adhäsion auf Oberflächen relevant sind. Dabei wird speziell auf die Adhäsion von Bakterien auf abiotischen Oberflächen eingegangen.

3.2.1 Bakterien

Bakterien bilden neben Eukaryoten und Archaeen die dritte Domäne in die das Leben auf der Erde eingeteilt werden kann [165]. Bakterien besitzen keinen Zellkern, ihr genetischer Code befindet sich in einem speziellen, eng begrenzten Bereich im Zytoplasma, genannt Nucleoid [153]. Weiterhin haben Bakterien auch keine Organellen wie Mitochondrien oder endoplasmatisches Reticulum [102].

Die Klassifizierung von Bakterien kann mit Hilfe der Gram-Methode in Gram-Negative und Gram-Positive Bakterien vorgenommen werden [60]. Die Unterscheidung erfolgt

dabei anhand der auftretenden Farbe bei der sogenannten Gram-Färbung. Die beiden unterschiedlichen Farben werden durch eine unterschiedliche Struktur der Zellwand der Bakterien verursacht.

Die Zellwand von Gram-Negativen Bakterien besteht aus einer dünnen Schicht Peptidoglycane (PGN). Die darauffolgende äußere Membran ist aus einer Doppelschicht Phospholipide mit eingebetteten Proteinen aufgebaut und wird durch Lipopolysaccharide (LPS) erweitert. Die grundlegende Struktur der Lipopolysaccharide ist immer die Gleiche. Die Lipopolysaccharide teilen ihr Lipid A mit der Phospholipid-Doppelschicht. Das Lipid A ist mit dem inneren Polysaccharid verbunden gefolgt von einem zweiten Polysaccharid-Komplex (O-Antigen). Die Lipopolysaccharide können zusätzlich mit einer komplexen, äußeren Proteinschicht verbunden sein, die sich auf Gram-Negativen Bakterien bilden kann.

Gram-Positive Bakterien besitzen keine äußere Membran. Dagegen besitzen sie eine deutlich dickere Peptidoglycane Schicht. Mit dieser Schicht verbunden sind zahlreiche proteinartige sowie nicht-proteinartige Makromoleküle. Diese Moleküle spielen bei zahlreichen Aufgaben wie dem Transport von Nährstoffen oder der Adhäsion an Oberflächen eine wichtige Rolle [97].

Sowohl Gram-Positive als auch Gram-Negative Bakterien können längliche Organellen (z.B. Fimbrien) an ihrer Oberfläche ausbilden. Diese Organellen unterstützen die Bakterien in ihrer Fähigkeit zur Fortbewegung und Adhäsion an Oberflächen.

In dieser Arbeit wird das Gram-Positive Bakterium *Staphylococcus aureus* betrachtet [100]. In dessen Zellwand kann eine Vielzahl von Makromolekülen gefunden werden, diese können in drei verschiedene Gruppen kategorisiert werden. Kovalent gebundene Proteine [24], nicht-kovalent gebundene Proteine [75] und nicht-proteinartige Moleküle [67]. Diese breite Vielzahl an Zellwandmoleküle gibt *Staphylococcus aureus* die Fähigkeit an nahezu jede Oberfläche zu binden und entsprechende Biofilme auszubilden. Zusammen mit seinen pathogenen Eigenschaften und der Antibiotikaresistenz macht dies *Staphylococcus aureus* zu einer massiven Gefahr für die menschliche Gesundheit. Dies ist mit ein Grund für das große Interesse, dass dieses Bakterium in der Forschung erfährt. Dabei ist die Funktion vieler Oberflächenproteine sowie der Mechanismus der Adhäsion auf Oberflächen aber noch nicht vollständig verstanden [34], ein Forschungsfeld, dass auch Gegenstand dieser Arbeit ist.

3.2.2 Wirkende Kräfte

Von der vier fundamentalen Kräften in der Physik, starke und schwache Wechselwirkung, Gravitation und elektromagnetische Wechselwirkung, ist nur Letztere relevant für den Prozess der Adhäsion. Starke und schwache Wechselwirkung spielen nur auf sub-atomaren Skalen eine Rolle und die Gravitation ist die dominierende Kraft auf kosmischen Skalen. Auf mikroskopischer Ebene ist die elektromagnetische Kraft die dominierende Wechselwirkung [77]. Diese kann bei genauerer Betrachtung in weitere Untereinheiten klassifiziert werden.

van-der-Waals Kräfte

Als van-der-Waals (vdW) Kräfte werden die Kräfte bezeichnet, die zwischen permanenten und induzierten Dipolen wirken [92, 106, 107].

- Wechselwirkung zwischen zwei permanenten Dipolen (Keesom-Wechselwirkung)
- Wechselwirkung zwischen einem permanenten und einem induzierten Dipol (Debye-Wechselwirkung)
- Wechselwirkung zwischen zwei induzierten Dipolen (Londonsche-Dispersionswechselwirkung)

Auf mikroskopischer Ebene zwischen zwei Atomen oder Molekülen skalieren die vdW-Kräfte mit r^{-6} wobei r der Mittelpunktsabstand der beiden Objekte ist. Die vdW-Kräfte sind daher auf atomaren Skalen sehr schwach und kurzreichweitig. Da sie aber zwischen sämtlichen Bestandteilen eines Systems wirken, entfalten sie auf makroskopischem Level starke, anziehende Wirkung. Im Fall von Oberflächenkräften führt dies dazu, dass nicht nur die Oberflächenatome wechselwirken, sondern auch Atome im Innern der Objekte via vdW-Kräfte eine Rolle spielen. In diesem Sinne ist das in der Arbeit untersuchte System aus Bakterium, Cantilever und Substrat makroskopisch, auch wenn ein einzelnes Bakterium nicht unbedingt als makroskopisches Objekt angesehen werden kann.

Die genaue Form der vdW-Kräfte hängt dabei von der Geometrie der beteiligten Körper ab. Die vdW-Kräfte zwischen einer Kugel und einer flachen Oberflächen skalieren z.B. mit r^{-2} . Die Stärke der Kräfte ist dabei abhängig von der Umgebung in dem sich die wechselwirkenden Körper befinden (z.B. Vakuum, wässrige Lösung, etc.), da die vdW-Kräfte ebenfalls zwischen den Objekten und ihrer Umgebung wirken.

Elektrostatische Kräfte

Die elektrostatischen Kräfte (Coulomb-Wechselwirkung) zwischen zwei geladenen Körpern verhalten sich gewöhnlich wie r^{-2} [89]. Dies gilt streng genommen jedoch nur wenn sich beide Körper im Vakuum befinden, ändert sich die Umgebung, so ändert sich auch das Verhalten der Coulomb-Kräfte.

In wässriger Lösung besitzen fast alle Oberflächen eine Ladung. Diese Ladung entsteht durch die Ionisation oder Dissoziation von Oberflächengruppen oder der Anlagerung von Ionen aus der Lösung. Durch diese Oberflächenladung werden Ionen aus der Lösung angezogen und bilden in der Nähe der Oberfläche eine Schicht mit entgegengesetzter Ladung (Stern- oder Helmholtz-Schicht). Zusätzlich zu dieser Schicht schwach gebundener Ionen bildet sich eine weitere Schicht diffusiver Ionen weiter entfernt von der Oberfläche über der Stern-Schicht. Beide Schichten zusammen bilden die sogenannte *Elektrische Doppelschicht* [77].

Die Kraft zwischen den elektrischen Doppelschichten zweier Körper fällt in der Regel

exponentiell mit ihrem Abstand. Ein Beispiel ist die Wechselwirkung zwischen einer flachen Oberfläche und einer Kugel mit Radius R

$$F_{DL} \sim R\kappa e^{-\kappa r} \quad (3.1)$$

mit der Debye-Länge κ^{-1} und dem Abstand r . Die Debye-Länge definiert dabei die typische Längenskala der Kraft, sie hängt nur von den Eigenschaften der Lösung ab [77]. Dagegen ist der absolute Wert der Kraft abhängig sowohl von den Eigenschaften der beteiligten Körper als auch der Lösung.

Wasserstoffbrücken

Die Wasserstoffbrückenbindung (H-Bindung) entsteht wenn zwei Moleküle über Wasserstoffatome in Wechselwirkung treten [77]. Dazu muss das H-Atom kovalent an ein stark elektronegatives Atom (Donator, z.B. Sauerstoff, Stickstoff oder Fluor) gebunden sein. Dies führt zu einer positiven Partialladung am H-Atom und einer negativen Partialladung am Bindungspartner da das elektronegative Atom eine stärkere Anziehung auf das gemeinsame Elektronenpaar ausübt wodurch sich ein starker Dipol bildet. Die Wasserstoffbrücke entsteht nun wenn sich das H-Atom an ein Atom mit negativer Partialladung eines anderen Moleküls (Akzeptor) bindet. Es gibt dabei Atome, die sowohl als Donator und Akzeptor fungieren können, z.B. Sauerstoff im Fall von Wasser wodurch eine H-Brücke zwischen Wassermolekülen ermöglicht wird. Die Stärke einer einzelnen H-Brücke liegt in der Regel zwischen 5 und 10 kBT.

H-Brücken spielen für die Eigenschaften von für Leben wichtigen Molekülen eine entscheidende Rolle. Das bereits erwähnte Wasser kann auf Grund seines Aufbaus aus zwei Wasserstoff- und einem Sauerstoff-Atom drei H-Brücken ausbilden, wodurch sich z.B. der im Vergleich hohe Siedepunkt von Wasser erklärt. Des weiteren beeinflussen H-Brücken maßgeblich die Struktur von Proteinen sowie DNA und RNA.

Hydrophobe und Hydrophile Wechselwirkung

Auf Grund der Tatsache das Wassermoleküle Dipole sind und dazu tendieren H-Brücken zu bilden entsteht zwischen zwei Oberflächen in Wasser eine weitere Art der Wechselwirkung.

Zwei hydrophobe Oberflächen, also solche, die keine H-Brücken ausbilden können, ziehen sich in Wasser an. Durch die Unfähigkeit H-Brücken zu bilden wird das H-Brückennetzwerk des Wassers in der Nähe der Oberfläche gestört. Dadurch entsteht ein im Vergleich zum ungestörten Netzwerk energetisch ungünstigerer Zustand. Daher versuchen beide Oberflächen diese Zone des gestörten Netzwerks zu verkleinern was eine anziehende Kraft zwischen ihnen verursacht (Hydrophobe Kraft) [122].

Hydrophile Oberflächen, die sehr leicht sehr viele Wasserstoffbrücken bilden, stoßen sich dagegen in wässriger Lösung ab (Hydrophile Kraft). Auf Grund der mit den Oberflächen gebildeten H-Brücken ist ein Zustand, in dem beide Oberflächen von Wasser umgeben sind energetisch am günstigsten [122].

Hydrophobe Wechselwirkung spielt eine große Rolle bei der Adsorption von Proteinen [15] und für die Struktur von Proteinfilmen auf festen Oberflächen [76].

Sterische Wechselwirkung

Als sterische Wechselwirkung bezeichnet man die Kräfte, die auftreten, wenn man zwei Atome so weit einander annähert, dass ihre Elektronenhüllen anfangen sich zu überlappen. Diese Kräfte sind quantenmechanischen Ursprungs (Pauli-Prinzip) und extrem stark [140, 141]. Es gibt eine Reihe von Ansätzen diese Kräfte zu beschreiben. Die Einfachste ist das *Harte Kugel Potential* mit einer unendlich starken Abstoßung unterhalb eines bestimmten Grenzabstandes r_0 und verschwindender Wechselwirkung darüber. Dies entspricht dem Bild zweier makroskopischer Kugeln, die sich nicht überlappen dürfen ansonsten aber keine Wechselwirkung aufweisen.

Ein zweites, häufig genutztes Potential zur Beschreibung sterischer Wechselwirkung ist ein Potential der Form

$$W_{st} \sim \left(\frac{\sigma}{r}\right)^n \quad (3.2)$$

Typischerweise wird $n = 12$ gewählt und obiges Potential ist der abstoßende Anteil im Lennard-Jones-Potential welches zusätzlich noch einen anziehenden van-der-Waals Teil enthält.

$$W_{LJ} = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6 \right] \quad (3.3)$$

Der Parameter σ bezeichnet dabei den Abstand bei dem das Potential eine Nullstelle besitzt.

Das Lennard-Jones-Potential besitzt ein Minimum der Tiefe ε im Abstand $r_m = \sqrt[6]{2}\sigma$. In diesem Abstand wirkt keine Kraft zwischen den Teilchen.

Entropische Kräfte

Es gibt unzählige Lehrbücher, z.B. [143] und wissenschaftliche Artikel, z.B. [150], die sich mit Entropie und entropischen Kräften beschäftigen, auch speziell für das Gebiet der Polymere, z.B. [27, 112, 149, 151]. Hier soll nur ein kurzer Abriss des Themas gegeben werden, für eine detaillierte Betrachtung wird auf die Literatur verwiesen.

Die Entropie ist eine fundamentale Größe in der statistischen Physik. Für einen gegebenen Makrozustand stellt sie ein Maß für die Zahl der Mikrozustände dar, die diesen Makrozustand erzeugen. Je höher die Zahl der Mikrozustände, desto höher die Entropie. Der Makrozustand eines Systems ist dabei definiert durch wenige Zustandsvariablen wie z.B. Temperatur, Volumen und Teilchenzahl falls die freie Energie als thermodynamisches Potential zur Beschreibung des Systems verwendet wird. Der Mikrozustand dagegen wäre im klassischen Fall definiert durch die Angabe von Ort und Impuls aller Teilchen im System.

Zur Veranschaulichung kann das ideale Gas betrachtet werden wobei der Makrozustand durch die Teilchendichte beschrieben werden kann. Obwohl im idealen Gas alle Mikrozustände mit der gleichen Wahrscheinlichkeit angenommen werden, beobachtet man doch nur solche Makrozustände mit homogener Teilchendichte. Der Grund hierfür liegt in

der Anzahl der entsprechenden Mikrozustände, die Zustandsdichte hat bei homogenen Teilchendichten ein scharfes Maximum. Es gibt also sehr viel mehr Mikrozustände mit homogener Teilchendichte als solche mit nicht-homogener Dichte. Daher ist für homogene Dichten auch die Entropie maximal.

Die Existenz von entropischen Kräfte beruht nun auf genau der Tatsache, dass verschiedene Makrozustände von einer unterschiedlichen Zahl von Mikrozuständen gestützt werden können. Bringt man ein System, in dem alle Mikrozustände mit der gleichen Wahrscheinlichkeit angenommen werden, in einen Makrozustand mit nur wenigen Mikrozuständen so wird dieses System eine Kraft erfahren, die das System in einen Makrozustand mit mehr Mikrozuständen treiben wird, d.h. einen Zustand der mit einer höheren Wahrscheinlichkeit angenommen wird. Da alle Mikrozustände die selbe Energie haben beruht diese Kraft allein auf der Maximierung der Entropie des Systems, daher Entropische Kraft.

Ein für diese Arbeit relevantes Beispiel für den Einfluss entropischer Kräfte ist die Konformation von Polymeren. Diese bestehen aus verketteten Einzelmolekülen (Monomere) und eine bestimmte Konformation bzw. Mikrozustand kann z.B. durch den Satz von Raumwinkeln zwischen den einzelnen Monomeren beschrieben werden. Eine mögliche Beschreibung des Makrozustandes kann durch den Vektor \vec{E} erfolgen, der die beiden Enden des Polymeres verbindet. Nimmt man nun näherungsweise an, dass eine Änderung des Winkels zwischen den Monomeren ohne Energieänderung erfolgt, so haben alle Makrozustände die gleiche Energie. Das bedeutet aber gleichzeitig, dass alle möglichen Winkel mit der selben Wahrscheinlichkeit angenommen werden und jede Konformation des Polymers ist dann eine Realisierung eines dreidimensionalen Random Walks. Damit ist der Makrozustand mit $\vec{E} = 0$ die Konformation mit der größten Wahrscheinlichkeit ¹.

Aus diesem Grund befinden sich Polymere in der Regel in einem geknäulten Zustand, da die zugehörigen Makrozustände von einer hohen Zahl von Mikrozuständen erzeugt werden. Im Gegensatz dazu wird z.B. der Makrozustand des vollständig gestreckten Polymeres nur von einem Mikrozustand erzeugt, nämlich wenn alle Monomere parallel ausgerichtet sind. Allgemein haben Konformationen mit kleineren Ende-zu-Ende Distanzen eine höhere Wahrscheinlichkeit als solche mit größeren Abständen, da die Zahl der Mikrozustände von denen sie erzeugt werden größer ist.

Streckt man ein solches Polymer wird man eine rücktreibende Kraft erfahren, die rein entropischen Ursprungs ist. Für kleine Auslenkungen, d.h. kleine Ende-zu-Ende Distanzen, ist die Kraft proportional zur Auslenkung (Entropische Feder).

¹Die wahrscheinlichste Distanz zwischen beiden Enden ist aber nicht Null sondern skaliert mit \sqrt{N} , wobei N die Zahl der Monomere ist.

Kapitel 4

3D-Zellmodell

Das Ziel des im Folgenden vorgestellten Projektes bestand in der Entwicklung eines flexiblen, dreidimensionalen Simulationsmodells zur Untersuchung von intrazellulärem Transport in der Geometrie einer realen Zelle. Dazu wurde die Form der Membran einer Zelle aus Mikroskopieaufnahmen rekonstruiert. Um die so erhaltene Zellgeometrie für das Modell nutzbar zu machen wurde die rekonstruierte Form der Zellmembran mit einem Dreiecksgitter approximiert, also trianguliert. Die so erzeugte triangulierte Oberfläche besteht aus Knoten, Kanten und Dreiecken, mathematischen Objekten, die im ComputermodeLL dargestellt werden können.

Zur Einführung des zu Grunde liegenden Transportmodells und des Modells für die Mikrotubuli wird allerdings zunächst eine wesentlich einfachere sphärische Geometrie für das Simulationsvolumen verwendet. Dieses Modell basiert auf früheren Arbeiten ([61, 62, 64]) die an dieser Stelle fortgesetzt und erweitert werden sollen.

4.1 Sphärisches Modell

Eine sphärische Geometrie für das Simulationsvolumen ist die einfachst mögliche Wahl, sie kann in der Simulation einfach implementiert werden. Während eines Durchlaufs der Simulation muss stets darauf geachtet werden, dass sich alle Objekte innerhalb des Simulationsvolumens befinden. Für eine Kugel ist dies genau dann der Fall, wenn der Abstand der Objekte vom Mittelpunkt der Kugel kleiner als der Radius ist.

Für nicht-sphärische Geometrien ist ein solch einfacher Abstandstest nicht mehr möglich.

Das Modell soll möglichst einfach gehalten werden und nur die für den intrazellulären Transport essentiellen Bestandteile enthalten. Daher beschränken wir uns auf folgende Teile der Zelle: Membran, MTOC, Mikrotubuli sowie die molekularen Motoren Kinesin und Dynein.

Die Zellmembran wird hier zunächst als kugelförmiges Objekt mit Radius R angenommen, das MTOC ist ebenfalls kugelförmig mit Radius $R_{MTOC} \ll R$ und sitzt im Mittelpunkt der Zelle. MTOC und Zelle haben also den selben Mittelpunkt.

Die Mikrotubuli werden als Polymere mit Hilfe des Worm-like-chain Modells modelliert und dienen als Transportgitter für die molekularen Motoren. Die Motoren sind sphärische Teilchen, die sich analog zum TASEP auf dem Mikrotubuli bewegen. Jede der zwei Motorspezies bewegt sich dabei unidirektional in die jeweils entgegengesetzte

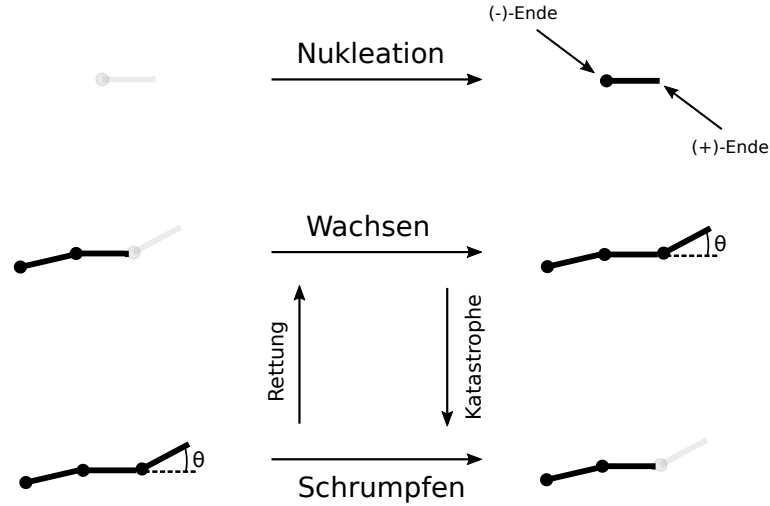


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung der Dynamik der Mikrotubuli im Modell mit den möglichen Prozessen Nukleation, Schrumpfen, Wachsen, Rettung und Katastrophe.

Richtung. Die Motoren können sich von den Filamenten lösen und bewegen sich dann diffusiv im ungebundenen Zustand. Ungebundene Motoren wiederum können an die Filamente binden.

Unabhängig vom Zustand der Motoren, ob gebunden oder ungebunden, nehmen wir immer Ausschlusswechselwirkung zwischen zwei Motoren an.

Zudem können weder Motoren noch Filamente in das Volumen des MTOC eindringen. Damit besteht das Simulationsvolumen stets aus dem Raum zwischen MTOC und Zellmembran.

4.1.1 Mikrotubuli

Wie bereits erwähnt sollen die Mikrotubuli unter Verwendung des WLC-Modell für Polymere modelliert werden. Um dies im Computer zu realisieren verwenden wir eine Beschreibung des WLC-Modells als diskrete Kette miteinander verbundener Knoten mit konstantem Abstand d , vgl. [164]. Mathematisch erhält man so einen Satz von Koordinaten für die Knoten

$$\{\vec{r}_i\}$$

und Verbindungsvektoren

$$\{\vec{u}_i\}$$

zwischen den Knoten mit

$$\vec{u}_i = \vec{r}_{i+1} - \vec{r}_i$$

Prozess	Rate
Nukleation	ω_n
Wachsen	ω_w
Schrumpfen	ω_s
Katastrophe	ω_k
Rettung	ω_r
Parameter	Symbol
Knotenabstand	d
Persistenzlänge	L_p

Tabelle 4.1: Parameter für die MT-Dynamik.

Da der Abstand zweier aufeinander folgender Knoten immer d ist, vgl. Tabelle 4.1, haben die Verbindungsvektoren ebenfalls die Länge d .

Der normierte Verbindungsvektor $\vec{t}_i = \vec{u}_i/d$ ist dann der Einheitstangentenvektor der Kurve im Punkt \vec{r}_i .

Der Tangentenwinkel zwischen \vec{t}_i und \vec{t}_{i+1} wird mit Θ_i bezeichnet.

$$\Theta_i = \angle(\vec{t}_i, \vec{t}_{i+1}) = \angle(\vec{u}_i, \vec{u}_{i+1})$$

Vergleiche auch Abbildungen 4.1 und 4.2.

Unter Beachtung der Eigenschaften des WLC-Modells werden die Winkel Θ_i normalverteilt gewählt mit Mittelwert

$$\langle \Theta_i \rangle = 0$$

und Varianz

$$\sigma^2 = \text{var}(\Theta_i) = \langle \Theta_i^2 \rangle = \frac{2d}{L_p}$$

Daraus ergibt sich dann für die Richtungskorrelationen der Tangenten

$$\langle \vec{t}_i * \vec{t}_{i+l} \rangle = \exp(-l/L_p)$$

Wie in realen Zellen sind die Filamente in unserem Modell nicht statisch, sondern können dynamisch wachsen und schrumpfen, die sogenannte dynamische Instabilität, für eine schematische Darstellung siehe Abbildung 4.1.

Neue Filamente entstehen dabei mit Rate ω_n immer am MTOC (Nukleation), d.h. der erste Knoten eines Filaments liegt auf dessen Oberfläche, seine Koordinaten werden gleichverteilt über die Oberfläche des MTOC gewählt. Das Ende des Filaments am MTOC wird als Minus-Ende bezeichnet, das Andere als Plus-Ende, analog zur Polarität realer Mikrotubuli.

Die Filamente existieren in zwei Zuständen, im wachsenden Zustand und im schrumpfenden Zustand. Zwischen beide Zustände finden stochastische Wechsel statt, von

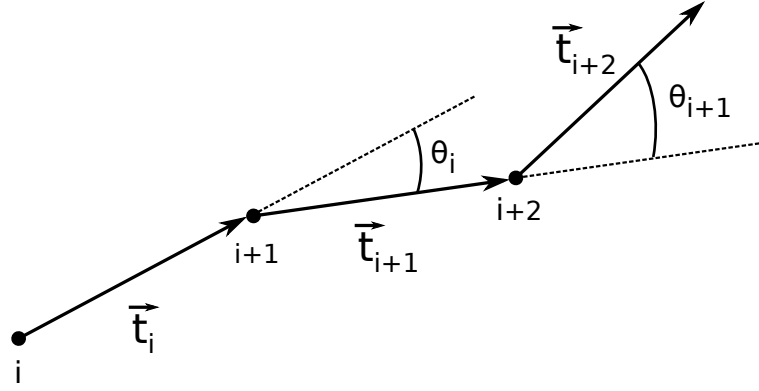


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung des verwendeten Mikrotubulimodells. Die Winkel Θ_i sind normalverteilt mit Mittelwert $\langle \Theta_i \rangle = 0$ und Varianz $\sigma^2 = \text{var}(\Theta_i) = \langle \Theta_i^2 \rangle = \frac{2d}{L_p}$.

Wachstum zu Schrumpfen (Katastrophe) mit Rate ω_k und vom schrumpfenden in den wachsenden Zustand (Rettung) mit Rate ω_r .

Wachstum und Schrumpfen findet dabei nur am Plus-Ende statt, das Minus-Ende wird am MTOC festgehalten. Es besteht aber die Möglichkeit, dass ein Filament vollständig depolymerisiert, dann verschwindet auch der erste Knoten am MTOC.

Im wachsenden Zustand wird am Plus-Ende des Filaments mit Rate ω_w ein neuer Knoten erzeugt, das Filament wächst. Ist der Mikrotubulus im schrumpfenden Zustand, so wird am Plus-Ende der letzte Knoten mit Rate ω_s gelöscht und das Filament schrumpft.

Die Parameter für die Filamente und ihre Dynamik sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Erzeugung der korrekten Winkelverteilung für Θ_i

Hier soll ein technisches Detail der Implementierung des Modells näher beschrieben werden, und zwar die Frage wie für ein wachsendes Filament der neue Knoten erzeugt wird.

Ausgehend vom letzten Knoten \vec{r}_N muss der neue Knoten \vec{r}_{N+1} so generiert werden, dass der Winkel Θ_{N-1} zwischen den Verbindungsvektoren $\vec{u}_N = \vec{r}_{N+1} - \vec{r}_N$ und $\vec{u}_{N-1} = \vec{r}_N - \vec{r}_{N-1}$ normalverteilt ist mit dem korrekten Mittelwert und der korrekten Varianz, zur Veranschaulichung siehe Abbildung 4.2.

In zwei Dimensionen ist dies recht einfach, ist \vec{u}_{N-1} in Polarkoordinaten gegeben mit

$$\vec{u}_{N-1} = \begin{pmatrix} d \cos(\varphi) \\ d \sin(\varphi) \end{pmatrix}$$

so erzeugt man einen Winkel $\Delta\varphi$ aus der gewünschten Normalverteilung und setzt

$$\vec{u}_N = \begin{pmatrix} d \cos(\varphi + \Delta\varphi) \\ d \sin(\varphi + \Delta\varphi) \end{pmatrix}$$

Damit gilt dann wie gewünscht $\angle(\vec{u}_{N-1}, \vec{u}_N) = \Delta\varphi = \Theta_{N-1}$, da

$$(\vec{u}_{N-1} * \vec{u}_N)/d^2 = \cos(\Delta\varphi)$$

und der Tangentenwinkel ist normalverteilt mit den korrekten Parametern. Den neuen Knoten erhält man dann durch

$$\vec{r}_{N+1} = \vec{r}_N + \vec{u}_N$$

Für ein dreidimensionales Modell ist die Erzeugung des neuen Knotens unter Beachtung der richtigen Tangentenwinkelverteilung nicht mehr so einfach möglich. Um dieses Problem zu lösen wurde eine Transformationsmethode benutzt, die auf einer Drehung des Koordinatensystems beruht, eine ganz ähnliche Methode findet in [51] Verwendung. Die Grundidee ist die Folgende: Angenommen der Vektor \vec{u}_{N-1} wäre parallel zur z-Achse, also

$$\vec{u}_{N-1} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ d \end{pmatrix}$$

Dann wäre die Erzeugung des neuen Knotens einfach, denn für den Winkel zwischen \vec{u}_{N-1} und einem beliebigen Vektor

$$\vec{a} = \begin{pmatrix} d \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ d \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ d \cos(\vartheta) \end{pmatrix}$$

gilt

$$\angle(\vec{u}_{N-1}, \vec{a}) = \vartheta$$

Für diesen Spezialfall ist der Winkel zwischen \vec{u}_{N-1} und einem zweiten Vektor \vec{a} gleich dem Azimutalwinkel von \vec{a} in Kugelkoordinaten.

Nun kann man nicht erwarten, dass dieser Spezialfall immer auftritt, aber wir können ihn herbeiführen, indem wir eine orthogonale Koordinatentransformation auf ein neues Koordinatensystem durchführen, in dem der Koordinatenvektor von \vec{u}_{N-1} parallel zur z-Achse ist. Da das Skalarprodukt zwischen Vektoren invariant unter solchen Transformationen sind, bleibt der Winkel zwischen den Vektoren erhalten. Ebenfalls erhalten bleiben die Längen der Vektoren.

Das globale Koordinatensystem der Simulation sei R und \vec{u}_{N-1} sei in diesem gegeben durch

$$\vec{u}_{N-1} = \begin{pmatrix} d \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ d \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ d \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \quad (4.1)$$

Wir wollen nun eine Transformation ausführen auf ein neues Koordinatensystem R_0 , in welchem für den transformierten Vektor $\vec{u}_{N-1,0}$ gilt

$$\vec{u}_{N-1,0} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ d \end{pmatrix} \quad (4.2)$$

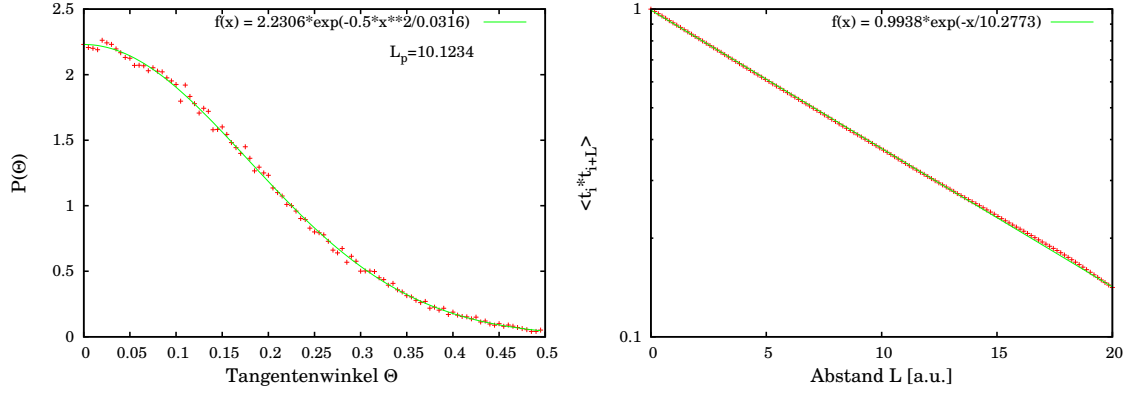


Abbildung 4.3: Links: Verteilung der vom verwendeten Algorithmus erzeugten Winkel Θ_i . Rechts: Richtungskorrelation der Tangenten als Funktion des Abstandes entlang der Filamentkontur. Die Winkel sind wie erwartet normalverteilt und die Korrelationen nehmen exponentiell mit dem Abstand ab.

Die Matrix T , die diese Transformation beschreibt ist gegeben durch

$$T = \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ \cos(\vartheta) \sin(\varphi) & \cos(\varphi) & \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \quad (4.3)$$

Zur Herleitung von T wird an dieser Stelle auf den Anhang verwiesen.

Die zu T inverse Matrix T^{-1} ist wegen der Orthogonalität von T gleich der Transponierten

$$T^{-1} = T^t = \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) & \cos(\vartheta) \sin(\varphi) & -\sin(\vartheta) \\ -\sin(\varphi) & \cos(\varphi) & 0 \\ \cos(\varphi) \sin(\vartheta) & \sin(\varphi) \sin(\vartheta) & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \quad (4.4)$$

Damit ist der Zusammenhang zwischen einem Koordinatenvektor \vec{v}_0 in R_0 und dem dazugehörigen Vektor \vec{v} in R gegeben durch

$$\vec{v} = T \vec{v}_0 \quad (4.5)$$

In R_0 kann der dem Vektor \vec{u}_N entsprechende Vektor $\vec{u}_{N,0}$ nun leicht so erzeugt werden, dass der Winkel $\Theta_{N-1,0} = \angle(\vec{u}_{N-1,0}, \vec{u}_{N,0})$ normalverteilt mit den gewünschten Parametern ist. Auf Grund der Invarianz des Skalarproduktes unter orthogonalen Transformationen gilt dann auch in R

$$\Theta_{N-1} = \angle(\vec{u}_{N-1}, \vec{u}_N) = \angle(\vec{u}_{N-1,0}, \vec{u}_{N,0}) = \Theta_{N-1,0} \quad (4.6)$$

Wir setzen für $\vec{u}_{N,0}$

$$\vec{u}_{N,0} = \begin{pmatrix} d \cos(\Phi) \sin(\Theta) \\ d \sin(\Phi) \sin(\Theta) \\ d \cos(\Theta) \end{pmatrix} \quad (4.7)$$

Dabei ist Θ normalverteilt mit Parametern $\langle \Theta \rangle = 0$ und $\text{var}(\Theta) = \langle \Theta_i^2 \rangle = \frac{2d}{L_p}$. Damit gilt dann für den Winkel $\Theta_{N-1,0}$ zwischen $\vec{u}_{N,0}$ und $\vec{u}_{N-1,0}$

$$\cos(\Theta_{N-1,0}) = \frac{\vec{u}_{N,0} \vec{u}_{N-1,0}}{d^2} = \begin{pmatrix} \cos(\Phi) \sin(\Theta) \\ \sin(\Phi) \sin(\Theta) \\ \cos(\Theta) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} = \cos(\Theta) \quad (4.8)$$

Der Winkel $\Theta_{N-1,0}$ ist also wie gewünscht normalverteilt mit den korrekten Parametern. Der Winkel Φ hat keinen Einfluss auf den Tangentenwinkel Θ_{N-1} und wird gleichverteilt aus dem Intervall $[0, 2\pi]$ gewählt.

Den gesuchten Vektor \vec{u}_N erhält man dann durch Transformation von $\vec{u}_{N,0}$ mit der Matrix T. Also

$$\begin{aligned} \vec{u}_N = T \vec{u}_{N,0} &= \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ \cos(\vartheta) \sin(\varphi) & \cos(\vartheta) & \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} d \cos(\Phi) \sin(\Theta) \\ d \sin(\Phi) \sin(\Theta) \\ d \cos(\Theta) \end{pmatrix} \quad (4.9) \\ &= d \frac{\begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) \cos(\Phi) \sin(\Theta) - \sin(\varphi) \sin(\Phi) \sin(\Theta) + \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \cos(\Theta) \\ \cos(\vartheta) \sin(\varphi) \cos(\Phi) \sin(\Theta) + \cos(\varphi) \sin(\Phi) \sin(\Theta) + \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \cos(\Theta) \\ -\sin(\vartheta) \cos(\Phi) \sin(\Theta) + \cos(\vartheta) \cos(\Theta) \end{pmatrix}}{(4.10)} \end{aligned}$$

Man rechnet leicht nach, dass gilt:

$$\cos(\Theta_{N-1}) = \frac{\vec{u}_N \vec{u}_{N-1}}{d^2} = \cos(\Theta_{N-1,0}) = \frac{\vec{u}_{N,0} \vec{u}_{N-1,0}}{d^2} = \cos(\Theta) \quad (4.11)$$

Der neue Knoten ergibt sich dann durch

$$\vec{r}_{N+1} = \vec{r}_N + \vec{u}_N$$

Zur Überprüfung dieser Berechnung wurden die Verteilung der Tangentenwinkel und die Richtungskorrelationen der Tangenten in den Simulationen für eine Persistenzlänge von $L_p = 10$ gemessen. Die erhaltenen Graphen in Abbildung 4.3) zeigen das gewünschte Verhalten der Größen.

4.1.2 Molekulare Motoren

Wir betrachten im Modell zwei Sorten von Motoren, Dynein, auch Minus-Teilchen genannt, und Kinesin, Plus-Teilchen genannt. Beide Motorsorten werden jeweils als sphärische Teilchen modelliert. Für die Dynamik der Teilchen wird immer Ausschlusswechselwirkung angenommen, d.h. zwei Motoren, unabhängig von der Sorte und vom Bindungszustand, können sich nie überlappen.

Die Kinesin-Motoren werden am MTOC erzeugt und wandern auf den Filamenten in Richtung der Plus-Enden, also Richtung Zellwand. Die Koordinaten für einen neuen Kinesin-Motor werden dabei zufällig auf der Oberfläche des MTOC gewählt. Erreicht

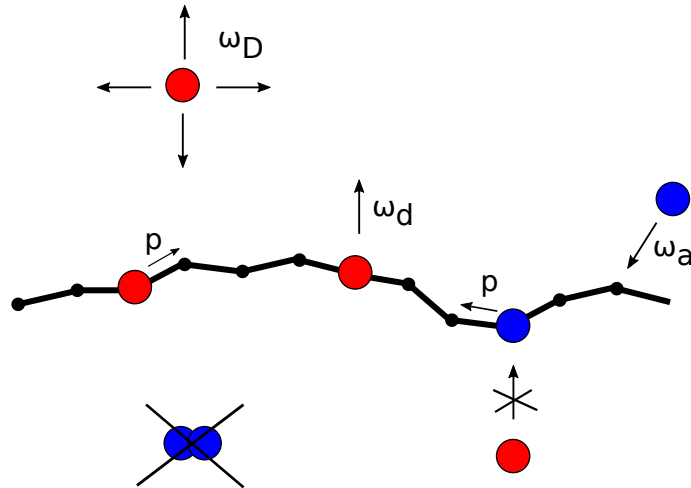


Abbildung 4.4: Darstellung der im Modell verwendeten Teilchendynamik. Nicht an ein Filament gebundene Motoren können unter Beachtung von Ausschlusswechselwirkung frei diffundieren. Motoren, die gebunden sind, führen auf dem Filament eine gerichtete Bewegung aus, wobei jeder Bindungsplatz nur einfach besetzt werden kann und die beiden Sorten von Motoren jeweils in entgegengesetzter Richtung laufen. Gebundene Motoren können sich vom Filament lösen während sich ungebundene Motoren wieder an das Filament binden können.

ein Kinesin-Teilchen den Zellrand wird es, unabhängig ob an ein Filament gebunden oder nicht, vernichtet.

Die Dynein-Motoren werden an der Zellwand erzeugt, ihre Koordinaten werden zufällig am Rand der Zelle gewählt, und bewegen sich auf den Filamenten in Richtung des Minus-Endes am MTOC. Erreichen sie dieses, werden sie dort wieder unabhängig vom Bindungszustand vernichtet.

Die Motoren führen auf den Filament also eine unidirektionale, gerichtete Bewegung aus. Dabei besteht immer die Möglichkeit sich vom Filament zu lösen und sich danach im ungebundenen Zustand diffusiv zu bewegen. Die Kinesine sind dabei für den Transport vom Zellinnern zum Zellrand verantwortlich und die Dyneine für den Transport in umgekehrter Richtung.

Ist der Abstand zwischen einem ungebundenen Motor und einem Filamentknoten kleiner als ein bestimmter Bindungsabstand, so kann der Motor an diesen Knoten des Filaments binden, sofern dieser noch unbesetzt ist.

Eine schematische Darstellung der Motordynamik findet sich in Abbildung 4.4 und eine Zusammenfassung der Parameter für die Motoren und ihre Dynamik in Tabelle 4.2.

Die hier verwendete Teilchendynamik ist vom TASEP bzw. PFF-Modell inspiriert und es finden sich in der Literatur zahlreiche Modelle zur Modellierung von intrazellulärem Transport mit ähnlicher Dynamik, z.B. [35, 37, 45]. Diese Dynamik spiegelt die in Experimenten beobachtete Prozessivität der molekularen Motoren wieder. Einen Überblick

Prozess	Rate
Diffusion	ω_D
Schritt	p
Attachment	ω_a
Detachment	ω_d
Parameter	Symbol
Teilchenradius	r_m
Bindungsabstand	a

Tabelle 4.2: Parameter für die Dynamik der molekularen Motoren.

über existierende Modelle findet sich in [7].

4.1.3 Ergebnis

Im Ergebnis erhält man mit den beschriebenen Bestandteilen ein Transportmodell in sphärischer Geometrie. Dieses Modell wurde mittels Monte-Carlo-Verfahren simuliert. Eine Visualisierung des Modells findet sich in Abbildung 4.5.

Das Modell erzeugt also die gewollte Simulationsumgebung. Die Filamente (grün) sind semiflexible Polymere die am MTOC entstehen und in Richtung Zellmembran wachsen. Die Kinesin-Motoren in Rot und die Dynein-Motoren in Blau sind sphärische Objekte, die sich entlang der Filamente bewegen können. Die Dynamik des Modells ist in einem Video auf der beiliegenden DVD genauer zu sehen.

4.2 Rekonstruktion der Zellmembran

Im vorherigen Abschnitt wurde ein Modell in sphärischer Geometrie beschrieben. Ziel ist es aber von der sphärischen Form weg und hin zu einer realistischeren Geometrie zu kommen. Dazu muss die Form einer realen Zelle in das Modell gepackt werden. Daher wird zunächst die Form einer Zelle aus Mikroskopieaufnahmen rekonstruiert und mittels Triangulation approximiert.

Zur Erzeugung und Verwaltung der Triangulation wurde eine externe Softwarebibliothek verwendet, die GNU Triangulated Surface Library [1], kurz GTS Library genannt. Dies ist eine in C geschriebene Open Source Bibliothek zum Erzeugen und Verwalten von triangulierten Oberflächen. Sie liefert einer Reihe von sehr nützlichen Datenstrukturen und Funktionen um mit solchen Oberflächen umzugehen, auch mit dynamischen, also solchen, die sich mit der Zeit verändern. Auch zur Durchführung der eigentlichen Simulationen innerhalb der triangulierten Zellmembran wurde vereinzelt auf Funktionen aus der GTS Library zurückgegriffen, soweit dies der Fall ist, wird an der betreffenden Stelle darauf hingewiesen.

Abbildung 4.6 zeigt einen Ausschnitt der verwendeten Mikroskopieaufnahmen. Diese wurden in der AG Kiemer an der Universität des Saarlandes mittels STED-Mikroskopie

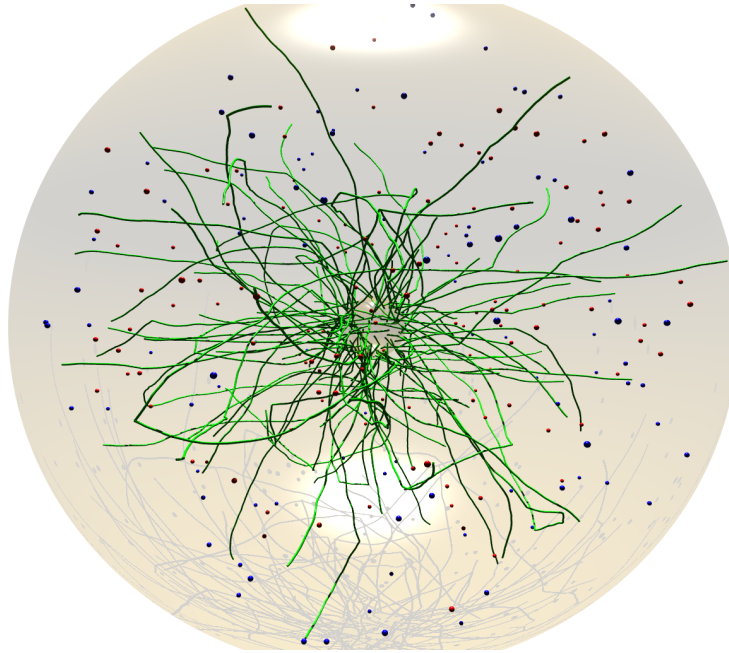


Abbildung 4.5: Visualisierung der vom Modell erzeugten Simulationsumgebung in sphärischer Geometrie mit den Bestandteilen MTOC, Mikrotubuli (Grün) sowie den Motormolekülen Kinesin (Rot) und Dynein (Blau).

aufgenommen. Dabei ist die Zelle auf einem Träger fixiert und das Mikroskop wird auf einen bestimmten Abstand von diesem Träger scharf gestellt. Durch Variation dieses Abstandes erhält man Querschnittsaufnahmen der Zelle für Ebenen parallel zum Träger im jeweiligen Abstand. Legt man den Träger in die x-y-Ebene mit $z = 0$ so entspricht jede Aufnahme einer Ebene mit Normalenvektor in z-Richtung und wachsendem Abstand vom Ursprung. Die Aufnahmen in Abbildung 4.6 zeigen daher jeweils einen Querschnitt der Zelle, der Abstand zum Träger steigt von links oben nach rechts unten. In Rot sind die Mikrotubuli zu erkennen.

Da nur die Mikrotubuli sichtbar gemacht wurden ist die Zellmembran auf den Aufnahmen nicht direkt zu erkennen. Die Grenze der Zelle lässt sich lediglich indirekt über die Ausdehnung des Mikrotubulinetzwerkes vermuten. Daher wurde entschieden, die Position der Zellmembran zu bestimmen, indem in jede Aufnahme die Grenze der Zelle von Hand eingezeichnet wird, siehe Abbildung 4.7.

Das letztliche Ziel dieses Abschnitts ist es, die Form der Zelle für die Simulation nutzbar zu machen. Dazu wird die in den Mikroskopieaufnahmen gefundene Membran der Zelle trianguliert, d.h. durch ein Dreiecksgitter approximiert. Jede Triangulierung besteht aus einer Menge von Punkten oder Knoten, die mit Kanten zu Dreiecken verbunden werden. Diese müssen nun für unsere Zellmembran erzeugt werden.

Das Einzeichnen per Hand liefert für jede Aufnahme, deren Anzahl nun mit n bezeichnet wird, die Position oder Kontur der Zellmembran. Die Aufnahmen werden so geordnet bzw. indiziert, dass Bildindex $k = 1$ der Aufnahme mit dem geringsten Abstand zum Träger entspricht und ein steigender Index einem steigenden Abstand vom Träger.

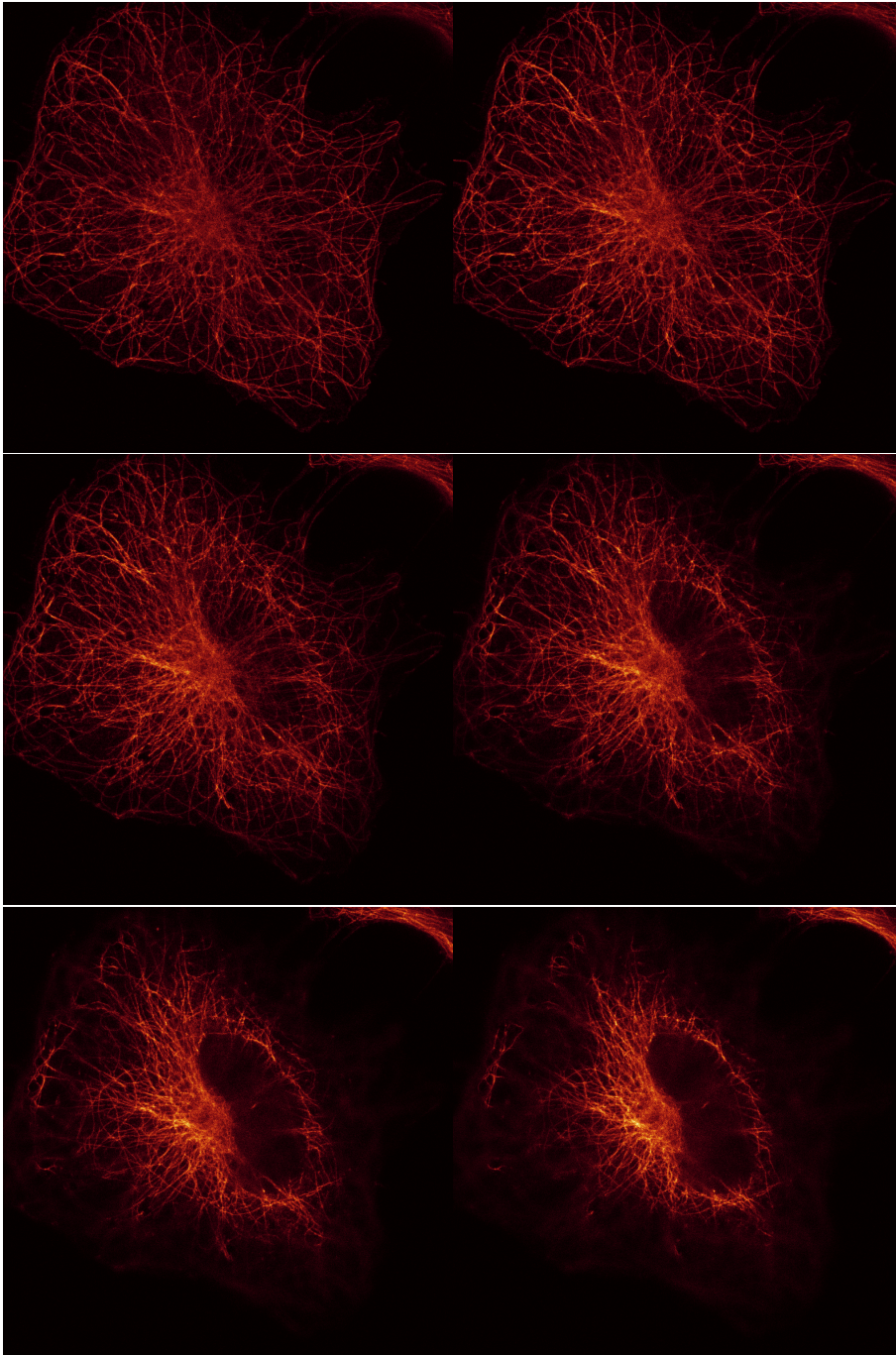


Abbildung 4.6: Mikroskopieaufnahmen der für die Rekonstruktion der Zellform verwendeten Zelle mit fluoreszierend markiertem Mikrotubulinetzwerk. Dargestellt sind sechs verschiedene Querschnittsaufnahmen, der Abstand vom Mikroskopieträger steigt dabei von links oben nach rechts unten.

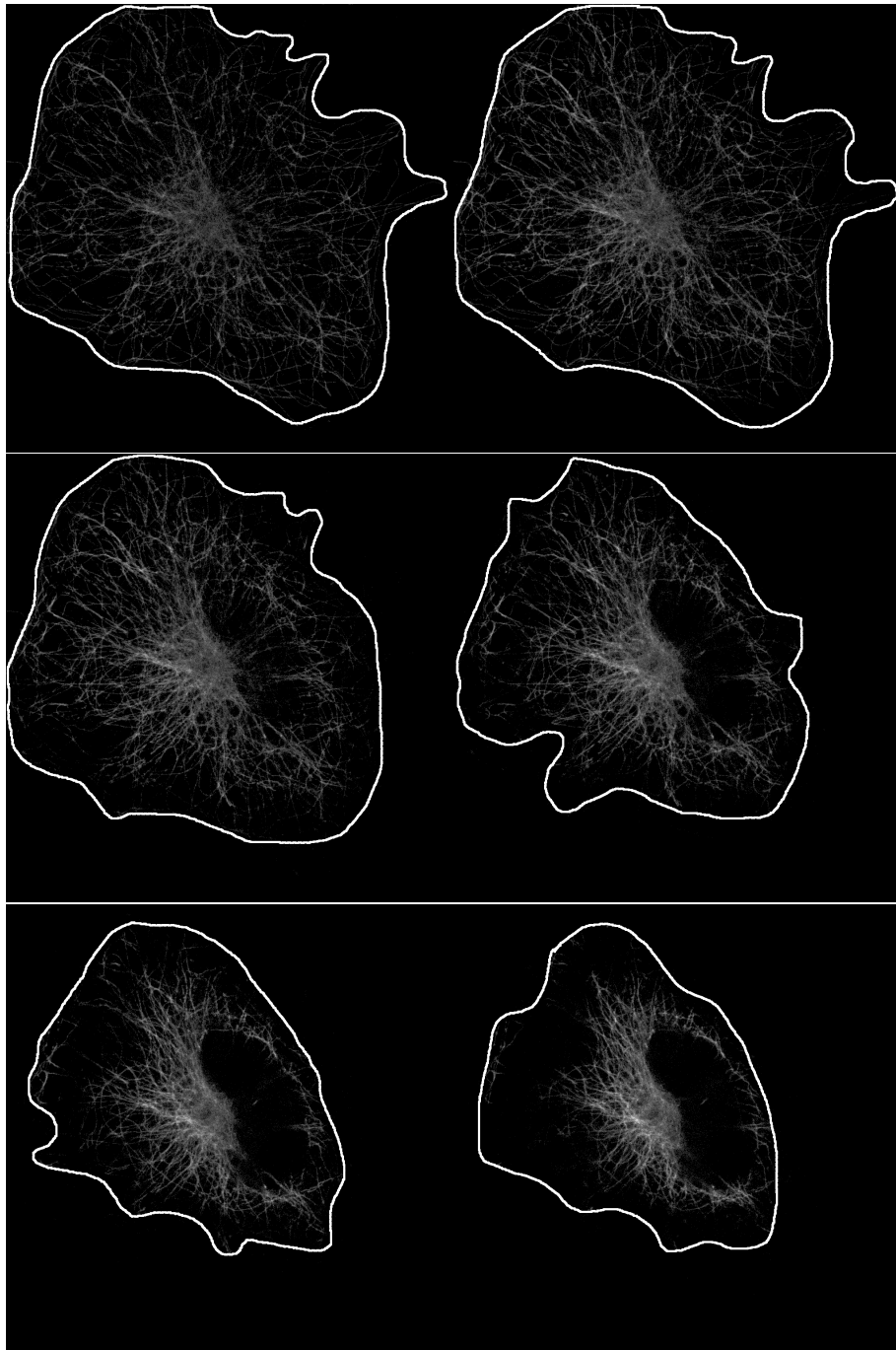
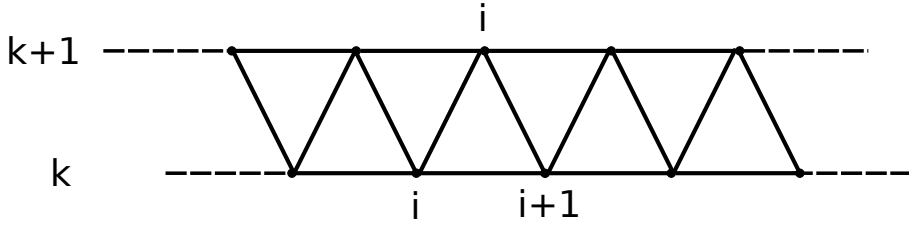


Abbildung 4.7: Die Abbildung zeigt die Aufnahmen aus Abb. 4.6 in schwarz-weiß. Eingezeichnet in weiß ist die wahrscheinliche Position der Zellmembran.



Abbildungung 4.8: Erzeugen eines Dreiecksgitters zwischen zwei Ebenen der aus den Mikrokopieaufnahmen rekonstruierten Zellmembran. Auf der Membran in äquidistantem Abstand verteilte Punkte werden zu Dreiecken verbunden und die Kontur mittels periodischer Randbedingungen geschlossen.

Index $k = n$ ist dann das letzte Bild mit dem größten Abstand. Im nächsten Schritt wird in jeder Aufnahme eine Zahl von N Punkten auf der Kontur der Membran verteilt und zwar mit äquidistantem Abstand entlang der Kontur der Membran. Dies liefert für jedes Bild eine Menge von Punkten \vec{r}_i

$$x_i = r_i \cos(\phi_i) \quad y_i = r_i \sin(\phi_i) \quad z_i = k \quad i = 1 \dots N$$

Diese Punkte dienen als Knoten der Triangulierung und werden dann nach folgendem Schema zu Dreiecken verbunden, vergleiche auch Abbildung 4.8.

Als Eckpunkte eines Dreiecks werden die Punkte i und $i + 1$ in Bild k und Punkt i in Bild $k + 1$ gewählt. Das nächste Dreieck besteht dann aus den Punkten i und $i + 1$ in Ebene $k + 1$ und Punkt $i + 1$ in k . Da die Konturen der Membran in jedem Bild geschlossen sind haben wir im Prinzip periodische Randbedingungen, der Punkt $i = N + 1$ entspricht dem Punkt $i = 1$. Die letzten beiden Dreiecke zwischen zwei Bildebene k und $k + 1$ bestehen daher aus den Punkten $i = N$ und $i = 1$ in Ebene k und dem Punkt $i = N$ in Ebene $k + 1$ sowie aus den Punkten $i = n$ und $i = 1$ in Ebene $k + 1$ und Punkt $i = 1$ in Ebene k . So entsteht eine Triangulierung der Zellmembran jeweils zwischen zwei Aufnahmen. Die Verbindungen zwischen den Knoten werden dabei als Kanten bezeichnet.

Um die Zellmembran zu schließen muss jetzt noch in der ersten und letzten Aufnahme die Fläche innerhalb der eingezeichneten Kontur der Membran durch ein Dreiecksgitter approximiert werden. Zunächst wird für jede der zwei Aufnahmen ein zusätzlicher Punkt erzeugt und zwar der Schwerpunkt \vec{S} der N Punkte auf der Konturlinie der Membran, siehe auch Abbildung 4.9.

$$\vec{S} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \vec{r}_j$$

Würde man jetzt direkt die Punkte \vec{r}_i auf der Konturlinie mit \vec{S} zu Dreiecken verbinden, so wären diese in der Regel sehr spitzwinklig. Um dies abzumildern wird eine weitere Menge von N Punkten erzeugt und zwar jeweils auf halber Strecke zwischen \vec{r}_i und \vec{S} .

$$\vec{u}_i = \frac{\vec{r}_i + \vec{S}}{2}$$

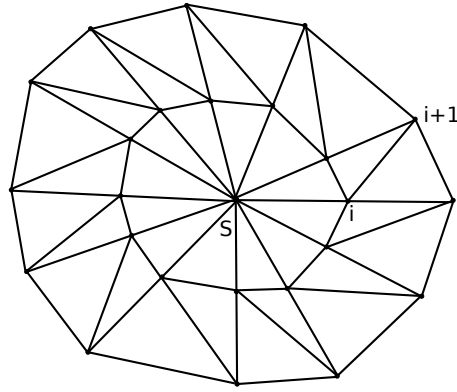


Abbildung 4.9: Schließen der triangulierten Oberfläche. Für die erste und die letzte Ebene wird im Schwerpunkt ein zusätzlicher Punkt erzeugt sowie jeweils ein Punkt in der Mitte der Strecke von diesem Schwerpunkt zu den Punkten auf der Membran. Anschließend werden die Punkte nach dem dargestellten Schema zu Dreiecken verbunden.

Danach werden die Punkte \vec{u}_i mit \vec{S} zu Dreiecken verbunden, ein Dreieck besteht aus den Punkten \vec{u}_i , \vec{u}_{i+1} und \vec{S} . Wegen der Geschlossenheit der Kontur besteht das letzte Dreieck aus den Punkten \vec{u}_N , \vec{u}_1 und \vec{S} .

Zur Erzeugung der Dreiecke zwischen den Punktmengen $\{\vec{r}_i\}$ und $\{\vec{u}_i\}$ kann das gleiche Verfahren angewendet werden wie zur Erzeugung der Dreiecke zwischen zwei Bildern k und $k + 1$. Man identifiziert die Punkte $\{\vec{r}_i\}$ als Punkte in Ebene k und die Punkte $\{\vec{u}_i\}$ als diejenigen in Ebene $k + 1$ ¹.

Insgesamt erhält man so eine triangulierte, geschlossene Oberfläche, die die Membran der untersuchten Zelle approximiert. Diese Triangulierung wird beschrieben durch mathematische Objekte wie Knoten, Kanten und Dreiecken, Objekte, die Koordinaten besitzen und damit in einer Computersimulation verwendet werden können.

Noch ein paar Worte zur Qualität dieser Approximation. Diese hängt natürlich davon ab, wie gut in jeder Mikroskopieaufnahme die Kontur der Membran gefunden wurde. Zum anderen ist die Güte einer Triangulierung prinzipiell davon abhängig wie hoch die Dichte der Knoten ist. Je mehr Knoten, desto besser können Objekte approximiert werden. Mehr Knoten erhöhen allerdings auch den Rechenaufwand in den Simulationen wenn die triangulierte Membran in diesen verwendet wird. Hier wurde versucht einen guten Mittelwert zwischen Qualität und Rechenzeit zu finden.

Zudem muss beachtet werden, dass die Zelle zur Durchführung der Mikroskopie auf einem Träger fixiert wurde. Die daraus gefundene Form der Zelle ist daher keine freie oder natürliche Konformation sondern ist durch die experimentellen Randbedingungen bestimmt.

Des weiteren wird später eine dynamische Membran untersucht, die hier gefundene Form dient dann lediglich als Anfangskonfiguration der Membran. Die Erinnerung

¹Das beschriebene Verfahren zur Triangulierung der Fläche innerhalb der Kontur funktioniert nur, falls die Flächen hinreichend konvex sind. Dies war bei den hier verwendeten Aufnahmen der Fall.

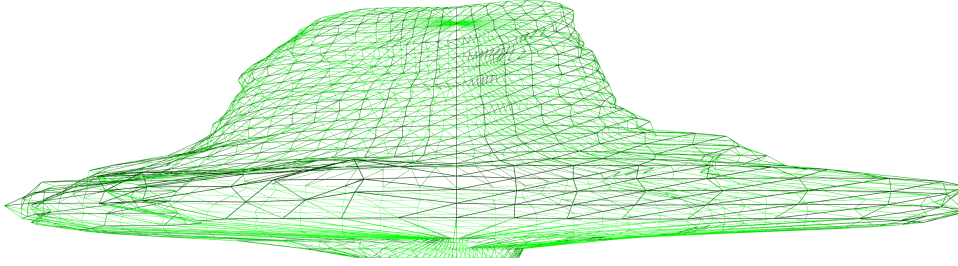


Abbildung 4.10: Darstellung der rekonstruierten, triangulierten Zelle. Die Triangulierung besteht aus 1352 Knoten, 4050 Kanten und 2700 Dreiecken. Die Visualisierung wurde mittels eines Raytracing-Programms (POV-Ray [3]) erzeugt. Für weitergehende Visualisierungen wird auf die Videos auf der beiliegenden DVD verwiesen.

an diesen Ausgangszustand geht im Verlauf der Simulation verloren. Wird für das Zellmodell eine korrekte Dynamik verwendet, so entwickelt sich eine freie Zelle ohne äußere Zwangsbedingungen auch aus einer aufgezwungenen Form als Anfangsbedingung zu einer natürlichen Konformation.

Abbildung 4.10 zeigt das Ergebnis des in diesem Abschnitt beschriebenen Verfahrens. Zur Visualisierung der triangulierten Oberfläche wurde die frei Raytracing-Software POV-Ray (The Persistence of Vision Raytracer [3]) verwendet.

Man erkennt deutlich die abgeflachte Form der Zelle auf Grund der Fixierung auf dem Mikroskopieträger. Auch sonst muss die Rekonstruktion der Membran als gelungen bezeichnet werden. Wir sind nun in der Lage Simulationen in einer im Vergleich zur sphärischen Form weitaus realistischeren Geometrie durchzuführen und haben durch die Triangulierung zudem Zugang zu beliebigen Konformationen, die sich aus der rekonstruierten Form entwickeln können.

4.3 Statisches Modell in realer Geometrie

Nachdem nun die Zellmembran als triangulierte Oberfläche für die Simulationen zur Verfügung steht, kann unser Transportmodell mit dieser kombiniert werden. Analog zur sphärischen Geometrie wird der Mittelpunkt $\vec{0}_{MTOC}$ des MTOC in den Schwerpunkt \vec{S} der Oberfläche gelegt. \vec{S} ist dabei definiert als Schwerpunkt der Knoten \vec{r}_i der Triangulierung. Existieren M Knoten so gilt

$$\vec{S} = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \vec{r}_i$$

Die restlichen Eigenschaften und die Dynamik des Transportmodells bleiben gleich. Um dafür Sorge zu tragen, dass alle Objekte während der Simulation innerhalb des Volumens der Zelle bleiben, stellt die GTS Library eine Funktion bereit, die überprüft

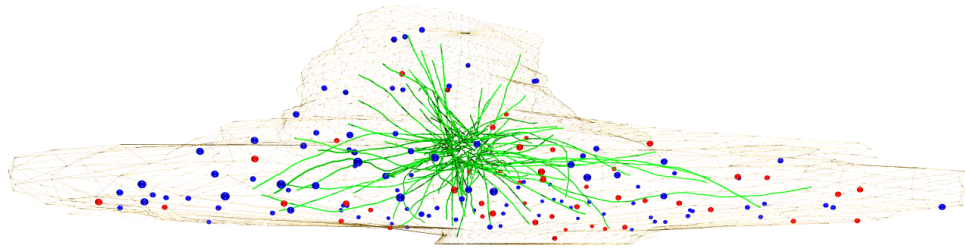


Abbildung 4.11: Visualisierung der vom Modell erzeugten Simulationsumgebung in realer Geometrie mit den Bestandteilen rekonstruierte, triangulierte Zellmembran, MTOC, Mikrotubuli (Grün) sowie den Motormolekülen Kinesin (Rot) und Dynein (Blau).

ob sich ein Punkt innerhalb einer triangulierten, geschlossenen Oberfläche befindet oder nicht. Die Funktion verwendet das in Kapitel 3 beschriebene Verfahren mittels eines Bounding-Box Tree's der triangulierten Oberfläche.

4.3.1 Ergebnisse

Es sollen hier nun einige Ergebnisse der Transportsimulationen innerhalb der rekonstruierten Zellmembran dargestellt werden. Da der Fokus der Arbeit auf der Entwicklung des Modells und der Simulationsumgebung liegt, wird kein Vergleich mit experimentellen Ergebnissen gegeben, sondern das Verhalten des Modells bei Variation verschiedener Parameter untersucht. Dies dient einerseits dem genaueren Verstehen des Modells als auch seiner Verifikation.

Kolokalisation

Hier wurde der Teilcheninput mit dem Filamentnetzwerk kolokalisiert, d.h. neu erzeugte Teilchen werden direkt an einen Knoten eines Filamentes gebunden. In Abbildung 4.12 werden die Teilchendichten für Kolokalisation mit einer Referenzkurve verglichen, bei der die Koordinaten der Teilchen bei Erzeugung wie in der Modellbeschreibung angegeben zufällig gewählt werden. Anzumerken ist hier noch, dass Kolokalisation in Zellen tatsächlich realisiert wird, Dynein bindet an die Minus-Enden der Mikrotubuli. Bevor wir zum Einfluss der Kolokalisation kommen, soll zuerst ein Blick auf den qualitativen Verlauf der Referenzkurve genommen werden. Die Dichte sowohl der gebundenen Plus-Teilchen als auch der gebundenen Minus-Teilchen korreliert mit der Dichte des Filamentnetzwerks. Diese ist in Abbildung 4.16 für den Fall einer dynamischen Oberfläche dargestellt, der Verlauf im statischen Fall ist allerdings der Gleiche. Die Plus-Teilchen erreichen die Membran hauptsächlich im ungebundenen Zustand durch Diffusion während die Minus-Teilchen im gebundenen Zustand am MTOC ankommen, also mittels Transport über das Filamentnetzwerk. Dies hängt direkt mit der Dichte von Filamenten in den entsprechenden Bereichen zusammen. Die Kolokalisation hat auf die Plus-Teilchen im Vergleich zu den Minus-Teilchen nur

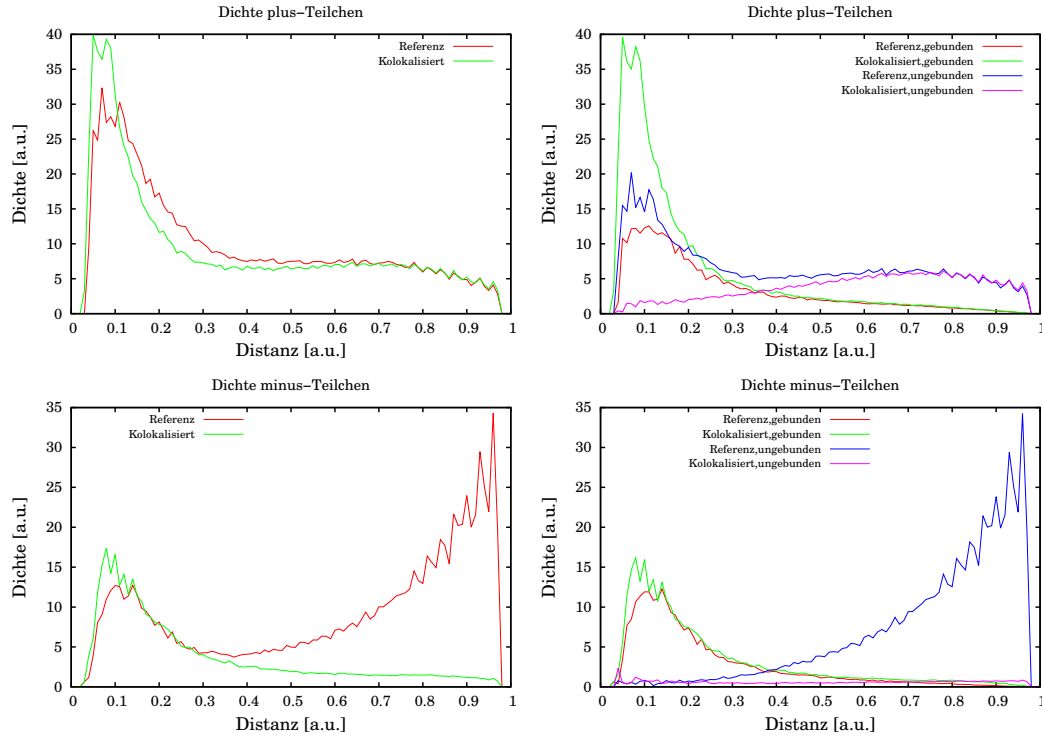


Abbildung 4.12: Einfluss einer Kolokalisation des Teilchen-Inputs mit dem Filamentnetzwerk auf die Teilchendichten im System. Der Abstand zwischen Massenmittelpunkt und Zellmembran wurde dabei für jede Richtung auf 1 skaliert.

einen geringeren Einfluss. In der Nähe des MTOC, also dort, wo die Plus-Teilchen erzeugt werden, ist der Anteil gebundener Teilchen erhöht, je weiter man sich jedoch in Richtung Zellwand entfernt, desto mehr nähern sich die Kurven an. Der Effekt der Kolokalisation ist hier also auf den Bereich in der Nähe des MTOC beschränkt. Die Dichte der ungebundenen Plus-Teilchen ist bei Kolokalisation durchgehend geringer als in der Referenzkurve.

Der Einfluss der Kolokalisation auf die Minus-Teilchen ist massiv. Die Dichte der Teilchen, insbesondere der Ungebundenen, in der Nähe der Zellmembran nimmt deutlich ab. Durch die Bindung der Teilchen an ein Filament können diese sehr schnell vom Zellrand in Richtung MTOC transportiert werden. Im Bereich des MTOC nähern sich dann beide Kurven wieder an.

Insgesamt nimmt die Zahl der Minus-Teilchen im System durch die Kolokalisation ab. Da die sonstigen Parameter bei beiden Kurven identisch sind, lässt sich daraus schließen, dass die Transporteffizienz für die Minus-Teilchen erhöht wird, während man für die Plus-Teilchen nur geringe Veränderungen erhält.

Der deutlich stärkere Einfluss auf die Minus-Teilchen lässt sich durch die Topologie des Filamentnetzwerks erklären. Im Bereich des MTOC, wo die Plus-Teilchen erzeugt werden, gibt es eine sehr hohe Dichte an Filamentknoten, da die einzelnen Mikrotubuli

ebenfalls in diesem Bereich entstehen. Werden die Plus-Teilchen im ungebundenen Zustand erzeugt so besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass sie sehr schnell an ein Filament binden können.

In der Nähe der Zellwand, dem Entstehungsbereich der Minus-Teilchen, ist die Dichte an Filamentknoten nur sehr gering. Ein im ungebundenen Zustand erzeugtes Minus-Teilchen wird daher im Mittel sehr lange brauchen bis es an einen Mikrotubulus binden kann und sich erst einmal diffusiv bewegen.

Einfluss Diffusionsgeschwindigkeit

Die Geschwindigkeit der Diffusion ist neben der Dichte des Mikrotubulinetzwerks der entscheidende Faktor, wie schnell ein ungebundener Motor wieder an ein Filament binden kann. Je langsamer die Diffusion ist, desto länger dauert es bis ein ungebundenes Teilchen einen Filamentknoten findet, da das pro Zeiteinheit abgesuchte Volumen sinkt. Verringert man die Diffusionsrate ω_D so steigen die Teilchendichten im System, die Transportkapazität verringert sich, siehe Abbildung 4.13. Erhöht man dagegen die Diffusionsgeschwindigkeit sind weniger Teilchen im System. Der Effekt einer geänderten Diffusionsrate macht sich vor allem bei den ungebundenen Teilchen bemerkbar. Man kann den Effekt einer langsameren Diffusion teilweise kompensieren, indem man die Dichte der Mikrotubuli durch eine höhere Nukleationsrate vergrößert. Dadurch steigt die Chance für ein ungebundenes Teilchen, trotz geringerer Diffusionsgeschwindigkeit einen Netzwerkknoten zu finden, wieder an.

Einfluss Persistenzlänge

Die Persistenzlänge L_p ist der Parameter, der die Form der Filamente bestimmt. Ist L_p in der Größenordnung des Durchmesser der Zelle so erhält man semiflexible Filamente. Ist die Persistenzlänge sehr viel kleiner erhält man Filamente, die sich zu einem Knäuel entwickeln, ist sie sehr viel größer als der Zelldurchmesser, so wachsen die Filamente gerade in Richtung Zellwand. Die Persistenzlänge sollte also erheblichen Einfluss auf die Transporteigenschaften des Systems haben.

In der Referenzkurve in Abbildung 4.14 ist die Persistenzlänge in der Größenordnung des Durchmessers der Zelle. Eine weitere Vergrößerung von L_p hat nur geringen Einfluss auf die Teilchendichten. In der Referenzkonfiguration sind die Filamente bereits in der Lage bis zur Zellwand zu wachsen, eine Erhöhung der Persistenzlänge führt lediglich dazu, dass dieses Wachstum weniger gekrümmt stattfindet. Der Transport der Teilchen auf dem Netzwerk findet dadurch aber direkter statt, der Weg auf dem Filament, der zurückgelegt werden muss, bis das MTOC bzw. die Membran erreicht werden, ist geringer. Dadurch erhöht sich die Zahl gebundener Teilchen, vor allem im Bereich des MTOC.

Verringert man die Persistenzlänge so weit, dass sie eine Größenordnung kleiner ist als der Zelldurchmesser, so winden sich die Filamente hauptsächlich um das MTOC herum und weniger Filamente erreichen noch die Membran. Dadurch wird vor allem der Transport der Plus-Teilchen blockiert, da sich diese auf den Filamenten jetzt

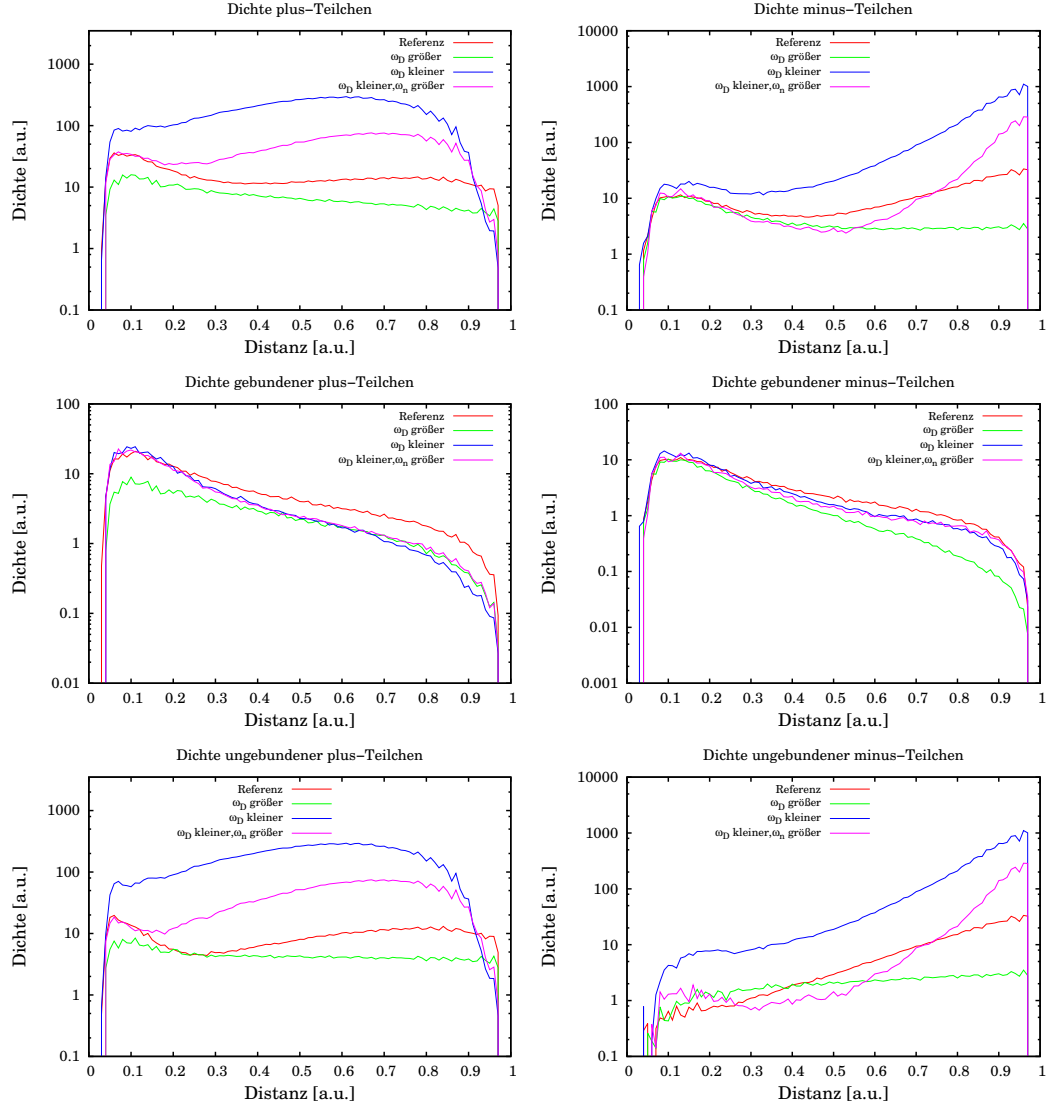


Abbildung 4.13: Einfluss der Diffusionsrate ω_D auf die Teilchendichten. Die Diffusionsrate wurde im Vergleich zur Referenz um den Faktor 10 verringert bzw. erhöht. Im Fall der erhöhten Nukleationsrate ω_n wurde diese verdoppelt.

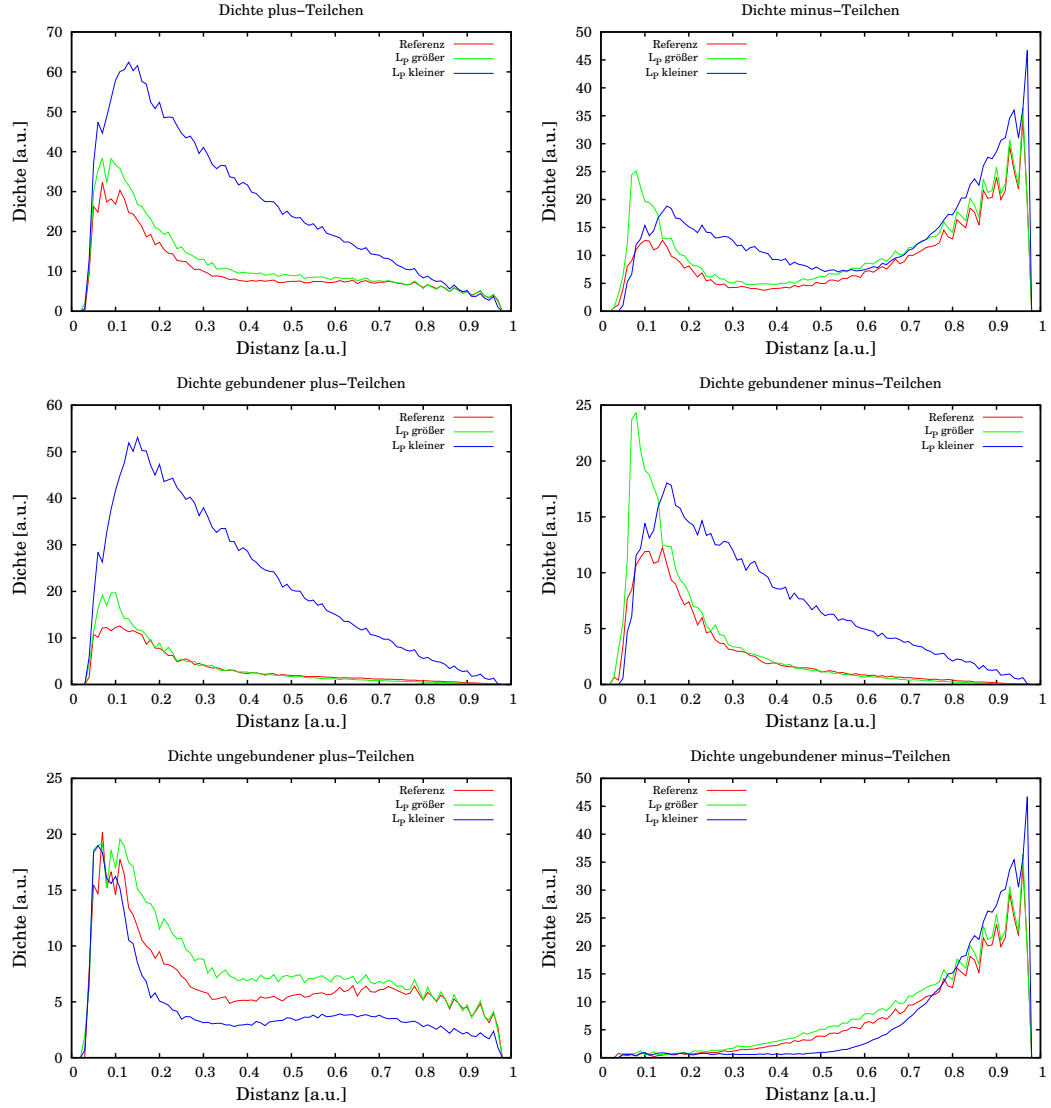


Abbildung 4.14: Einfluss der Persistenzlänge L_p der Mikrotubuli auf die Dichten von Plus- und Minus-Teilchen. Die Persistenzlänge wurde im Vergleich zur Referenz jeweils um den Faktor 10 verringert bzw. erhöht.

nicht mehr Richtung Membran bewegen sondern quasi das MTOC umkreisen. Für die Minus-Teilchen ist dieser Effekt nicht so stark ausgeprägt, da die Filamente nach wie vor am MTOC entstehen, d.h. die Minus-Teilchen können sich nach wie vor auf den Filamenten zum MTOC bewegen sobald sie sie durch ihre diffusive Bewegung erreicht haben, der dabei zurückgelegte Weg auf den Filamenten erhöht sich aber deutlich.

Die bei einer geringeren Persistenzlänge höhere Dichte an Filamenten hat aber auch den Vorteil, dass ungebundene Teilchen schneller wieder einen Knoten zum Binden finden können. Dies führt allerdings zu keinem effektiven, langreichweitigen Transport, da die Filamente kaum noch bis an die Membran reichen. Dies erklärt auch die erhöhte Dichte an gebundenen Teilchen für kleinere Persistenzlängen.

In realen Zellen zeigen die Filamente typischerweise stabiles Wachstum und polymerisieren bis zur Zellmembran wo dann der Prozess der dynamischen Instabilität stattfindet, vgl. Kapitel 3. Dies führt jedoch nur selten zur vollständigen Deploymerisation und die Filamente reichen in der Regel bis zur Membran.

4.4 Dynamisches Modell in realer Geometrie

In realen Zellen ist die Membran kein statisches Objekt sondern sie verändert ihre Form durch den Einfluss diverser Faktoren, z.B. Wechselwirkung mit Mikrotubuli- und Aktinfilamenten, Druck, Oberflächenspannung oder thermische Fluktuationen.

Um solche Faktoren berücksichtigen zu können wurde das Modell um die Möglichkeit einer dynamischen Membran, d.h. einer Membran die ihre Form verändern kann, erweitert.

Will man ein dynamisches Objekt, also ein Objekt, welches in verschiedenen Konfigurationen existieren kann, mittels Monte-Carlo-Verfahren simulieren, ist es nötig ihm eine Energiefunktion zuzuordnen. Diese Funktion muss jeder möglichen Konfiguration des Objektes eine Energie zuordnen. Wir werden im Folgenden zwei Möglichkeiten diskutieren dies bei einer triangulierten Oberfläche zu realisieren. Einmal ein Federnetzwerkmodell und zum zweiten das sogenannte Curvature-Modell.

Beide Modelle haben Vor- und Nachteile. Das Federnetzwerkmodell ist numerisch sehr viel einfacher zu handhaben als das Curvature-Modell und die nötige Rechenzeit ist dementsprechend geringer. Das Curvature-Modell wiederum ist das weitaus realistischere Modell zur Modellierung einer Zellmembran.

4.4.1 Federnetzwerkmodell

Im Federnetzwerkmodell werden die Kanten der Triangulierung, also die Verbindungen zwischen den Knoten, als lineare Federn betrachtet, die frei um die Knoten rotieren können. Die Energie einer Kante i ist damit gegeben durch

$$E_i = \frac{1}{2}k_i(l_i - l_i^0)^2 \quad (4.12)$$

Dabei ist k_i die Federkonstante von Kante i , l_i ist die aktuelle Länge der Kante und l_i^0 ist die Ruhelänge. Diese Ruhelänge ist hier die Länge, die sich aus der rekonstruierten

Membran 4.10 ergibt. Die Gesamtenergie E der Oberfläche ist dann die Summe der Energien der einzelnen Kanten.

$$E = \sum_i E_i = \sum_i \frac{1}{2} k_i (l_i - l_i^0)^2 \quad (4.13)$$

Eine Folge der so definierten Energiefunktion ist, dass die rekonstruierte Form der Membran diejenige Konfiguration mit Gesamtenergie $E = 0$ ist. Da die Gesamtenergie für jede andere Konfiguration größer als Null ist, hat die rekonstruierte Form der Membran per Definition minimale Energie, stellt also die Gleichgewichtskonfiguration dar. Dies muss als weitere Schwäche des Federnetzwerkmodells angesehen werden, da die Konfiguration minimaler Energie, also die Konfiguration die unter freien Bedingungen angenommen wird, so von außen vorgegeben wird. Zumal die rekonstruierte Form durch äußere Zwänge bestimmt war.

Durch die so erfolgte Definition einer Energiefunktion kann die Membran als dynamisches Objekt in unser Modell eingebaut werden. Die Simulation der dynamischen Oberfläche erfolgt dabei durch einen Standard-Metropolis Algorithmus:

1. Wähle zufällig einen Knoten i aus.
2. Verschiebe den Knoten um einen zufälligen Vektor $\Delta \vec{r}$.
3. Falls die durch die Verschiebung entstandene, neue Konfiguration erlaubt ist, d.h. die Oberfläche schneidet sich nicht selbst und es gibt keine Objekte, die nach der Verschiebung des Knotens außerhalb der Membran wären, akzeptiere den Move gemäß Metropolis-Algorithmus.

Besteht die Triangulierung aus N Knoten, so entspricht die N -fache Wiederholung der Schritte 1-3 einem Sweep der Oberfläche. Bei der Durchführung der Simulation wurde für jeden Sweep der Motoren und des Filamentnetzwerks ein Sweep der Oberfläche durchgeführt. Diese Anzahl ist letztlich willkürlich, aber da die Zeitskala für thermische Fluktuationen der Membran nicht bekannt ist, ist dies die einfachste Möglichkeit.

Update der Oberfläche im MC-Algorithmus

In Schritt 3 des MC-Algorithmus muss überprüft werden, ob die Verschiebung des gewählten Knotens zu einer erlaubten Konfiguration der Oberfläche führt. Hierzu ist zu überprüfen, ob sich die Oberfläche in der neuen Konfiguration selbst schneidet und ob es Motoren oder Filamentknoten gibt, die dann außerhalb der Membran liegen. Zudem muss zur Berechnung der Akzeptanzwahrscheinlichkeit im Metropolis-Algorithmus die durch die Verschiebung verursachte Änderung der Energie der Oberfläche berechnet werden. Es soll hier nun näher beschrieben werden, wie dies in den Simulationen umgesetzt wurde.

Verschiebt man ausgehend von einer Konfiguration S der Oberfläche einen Knoten \vec{r} um einen zufälligen Vektor $\Delta \vec{r}$, so verändert sich die Position von \vec{r} gemäß

$$\vec{r} \rightarrow \vec{r}' = \vec{r} + \Delta \vec{r}$$

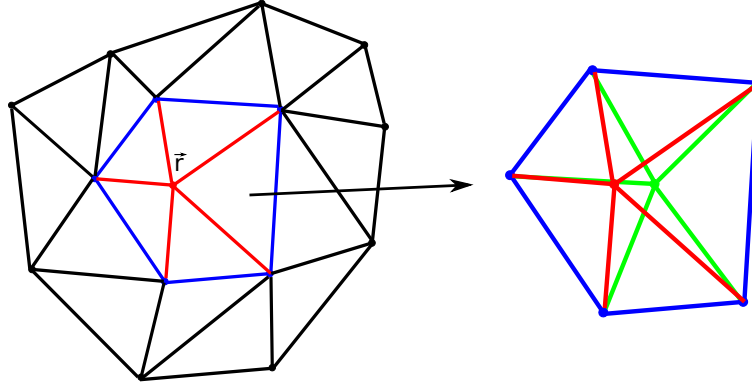


Abbildung 4.15: Schematische Darstellung der lokalen Änderung der Triangulierung bei Verschiebung eines Knotens \vec{r} . Die Änderung der Energie wird im Federnetzwerkmodell durch die Änderung der Längen der roten Kanten verursacht. Die neue Konfiguration nach Verschiebung ist in grün dargestellt.

Die dadurch entstehende neue Konfiguration S' unterscheidet sich von S durch (vergleiche auch Abbildung 4.15)

- Die Position des verschobenen Knotens.
- Alle Kanten, die den Knoten \vec{r} als einen Endpunkt haben.
- Alle Dreiecke, die den Knoten \vec{r} als Eckpunkt besitzen.

Die Änderung der Energie ergibt sich durch die Änderung der Länge aller mit dem Knoten \vec{r} verbundenen Kanten, diese sind in Abbildung 4.15 rot dargestellt. Bezeichnet man mit E die Energie der Konfiguration S und mit E' die Energie von S' , so erhält man:

$$\Delta E = E' - E = \frac{1}{2} \sum_i k_i [(l'_i - l_i^0)^2 - (l_i - l_i^0)^2] \quad (4.14)$$

Die Summe läuft dabei über alle Kanten, deren Länge sich durch die Verschiebung des Knotens geändert hat und l'_i ist die entsprechende Länge nach der Verschiebung.

Die sich durch die Verschiebung ergebende Änderung des Volumens entspricht einem Polyeder mit dreieckigen Seitenflächen und den Eckpunkten \vec{r} , \vec{r}' und den Knoten, die mit \vec{r} durch eine Kante verbunden waren. Die zugehörige Oberfläche ist bereits automatisch trianguliert und mit Hilfe der entsprechenden Funktion der GTS Library kann überprüft werden, ob sich Objekte in diesem Volumen befinden.

Um zu testen, ob die Oberfläche sich nach dem Update selbst schneiden würde, ist zuerst einmal zu überlegen, welche Möglichkeiten es gibt, durch die Verschiebung eines Knotens eine Selbstüberschneidung zu erzeugen. Zum einen können die Kanten, die durch das Update verändert werden, andere Dreiecke schneiden und zum anderen können die Dreiecke, die sich verändern, durch andere Kanten geschnitten werden.

Die GTS Library stellt eine Funktion bereit, die überprüfen kann, ob sich ein Dreieck

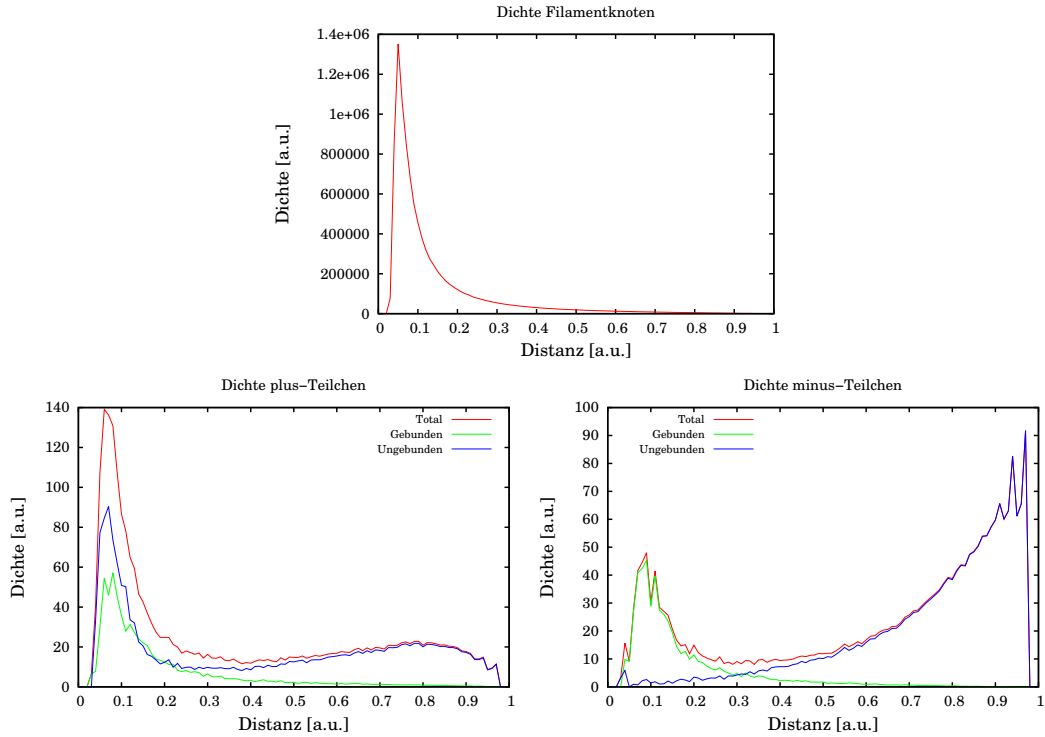


Abbildung 4.16: Filament- und Motorendichten im Federnetzwerkmodell. Die Ergebnisse unterscheiden sich qualitativ nicht von Simulationen im statischen Modell.

und eine Kante schneiden. Allerdings würde das Überprüfen aller in Frage kommenden Kombinationen von Kanten und Dreiecken extrem lange dauern. Um die Anzahl der möglichen Kombinationen zu Verringern wird wieder auf ein Verfahren mit Bounding-Boxen zurückgegriffen.

In einem ersten Schritt wird eine Bounding-Box um den verschobenen Knoten und alle mit diesem durch eine Kante verbundenen Knoten erzeugt. Diese Box enthält dann alle Kanten, die andere Dreiecke schneiden könnten und alle Dreiecke, die von anderen Kanten geschnitten werden könnten.

Um zu Testen, ob sich ein Objekt innerhalb oder außerhalb der triangulierten Oberfläche befindet, speichert das Simulationsprogramm permanent einen Bounding-Box Tree für die triangulierte Oberfläche, daher existieren Bounding-Boxen für alle Dreiecke der Oberfläche.

Einen Schnittpunkt zwischen einem Dreieck und einer Kante kann es nur geben, wenn sich auch die zwei Bounding-Boxen, welche diese Objekte enthalten, schneiden. Der Sinn dahinter ist es, dass es numerisch sehr viel einfacher und schneller ist, zwei rechteckige Boxen auf Überlapp zu testen als ein Dreieck und eine Kante.

Durch ermitteln aller sich überlappenden Bounding-Boxen kann die Anzahl der zu testenden Dreiecke und Kanten massiv reduziert werden und ein deutlicher Geschwindigkeitsgewinn in den Simulationen erzielt werden.

Transportsimulationen

Das Transportmodell kann nun auch mit der dynamischen Membran des Federnetzwerkmodells kombiniert werden. In Abbildung 4.16 sind Teilchen- und Filamentknotendichten aus einer solchen Simulation zu sehen. Auch diese Ergebnisse dienen primär als proof-of-concept.

Die Dichte der Filamentknoten spiegelt die Tatsache wieder, dass die Mikrotubuli am MTOC erzeugt werden und dann bei der gewählten Persistenzlänge radial nach außen wachsen, dies führt zu einer hohen Dichte am MTOC die mit zunehmendem Abstand kleiner wird. Die Kurven für die Teilchendichten unterscheiden sich qualitativ nicht von den Kurven für die statische Membran. Im Rahmen unseres Modells kann die Zelle ihr Transportsystem also unabhängig von morphologischen Veränderungen aufrecht erhalten.

4.4.2 Curvature-Modell

Das Curvature-Modell ist eine weitere Möglichkeit einer Oberfläche, z.B. einer Membran eine Energie zuzuordnen. Die Oberflächenenergie ist dabei gegeben durch

$$E = \frac{1}{2} \int_A \kappa (2H)^2 dA + \sigma A + pV \quad (4.15)$$

Dabei ist κ die Biegesteifigkeit der Oberfläche, H ihre mittlere Krümmung, σ die Oberflächenspannung und $p = p_{out} - p_{in}$ die Druckdifferenz zwischen außerhalb und innerhalb der Membran. A und V sind die Oberfläche bzw. das eingeschlossene Volumen. Der Integralausdruck ist nur für kontinuierliche Oberflächen gültig, für eine triangulierte Oberfläche muss dieser Ausdruck diskretisiert werden. Die Energie pro Knoten ist dann gegeben durch

$$E_i = \frac{\kappa_i}{2} (2H_i)^2 \Delta A_i + \sigma_i \Delta A_i \quad (4.16)$$

H_i ist hier die diskrete mittlere Krümmung am jeweiligen Knoten. Eine lokale Biegesteifigkeit κ_i und eine lokale Oberflächenspannung σ_i wurde verwendet um das Modell möglichst allgemein und variabel zu halten, vor allem im Hinblick auf potentielle Anwendungen abseits der Transportsimulationen. ΔA_i ist die dem i-ten Knoten zugeordnete Fläche, diese wird bestimmt, in dem die Fläche eines Dreiecks gleichmäßig auf seine drei Knoten verteilt wird. Jeder Knoten erhält damit ein Drittel der Fläche jedes Dreiecks dessen Eckpunkt er ist:

$$\Delta A_i = \sum_j \frac{1}{3} A_j \quad (4.17)$$

Dabei läuft die Summe über alle Dreiecke zu denen der Knoten i gehört. A_j ist die Fläche des j-ten Dreiecks.

Die gesamte Oberflächenenergie ist dann die Summe von E_i über alle Knoten plus der globale Beitrag des Volumenterms.

$$E = \sum_i E_i = \sum_i \frac{\kappa_i}{2} (2H_i)^2 \Delta A_i + \sigma_i \Delta A_i + pV \quad (4.18)$$

Der große Vorteil dieser Energiedefinition gegenüber dem Federnetzwerk ist die Tatsache, dass sie zur rekonstruierten Form der Oberfläche keinen Bezug nimmt und die Konfiguration minimaler Energie nicht von dieser abhängt.² Allerdings ist die Berechnung der diskreten mittleren Krümmung H_i numerisch weitaus zeitintensiver als lediglich die Berechnung von Quadraten der Kantenlängen im Federnetzwerkmodell, da hier trigonometrische Funktionen ausgewertet werden müssen. Die GTS Library enthält eine Funktion, die die Krümmung an einem Knoten einer triangulierten Oberfläche berechnen kann, das verwendete Verfahren ist [110] entnommen. Die Berechnung der Oberfläche ist trivial, sie ergibt sich als Summe der Flächen aller Dreiecke der Triangulierung. Zur Berechnung des eingeschlossenen Volumens wird wieder auf eine Funktion der GTS Library zurückgegriffen.

Update der Oberfläche im MC-Algorithmus

Das Update der Oberfläche funktioniert im Prinzip genauso wie für das Federnetzwerkmodell, allerdings ergeben sich durch die veränderte Energiefunktion Änderungen im Detail. Auch hier wird zufällig ein Knoten \vec{r} ausgewählt und um einen zufälligen Vektor verschoben, anschließend der Move gemäß Metropolis-Algorithmus angenommen oder verworfen.

Für die Änderung der Energie gemäß Gleichung 4.18 ist die Änderung der Flächen der Dreiecke, die den gewählten Knoten als Eckpunkt besitzen, relevant. Zudem ändert sich durch die Verschiebung die Krümmung am verschobenen Knoten und an allen Knoten $\{\vec{u}_i\}$, die mit diesem durch eine Kante verbunden sind, vgl. Abbildung 4.15. Wieder bezeichne S die Konfiguration der Oberfläche vor Verschiebung des Knotens und S' die Konfiguration danach. E und E' seien die zugehörigen Energien. Dann gilt für die Änderung der Energie ΔE :

$$\Delta E = E' - E = \sum_i (2H'_i)^2 \Delta A'_i - (2H_i)^2 \Delta A_i + \sigma_i (\Delta A'_i - \Delta A_i) + p(V' - V) \quad (4.19)$$

Die Summe läuft über den verschobenen Knoten und alle mit diesem durch eine Kante verbundenen Knoten. Die Änderung des Volumens $\Delta V = V' - V$ ist dabei gleich dem Volumen des durch \vec{r} , \vec{r}' und $\{\vec{u}_i\}$ erzeugten Polyeders.

Knotenumordnung

Durch das Verschieben einzelner Knoten während der Simulation wird die Triangulierung zunehmend ungeordneter. Es entstehen sehr lange und sehr kurze Kanten, an manchen Stellen ist die Knotendichte sehr hoch an anderen wiederum sehr niedrig und es entstehen immer mehr sehr spitzwinkelige Dreiecke.

Um dies zu korrigieren ist es nötig, während der Simulation in bestimmten Intervallen die Knoten neu anzuordnen ohne die Oberfläche in ihrer Form zu verändern. Diese Umordnung wird im Modell erreicht, indem ausgehend von der aktuellen Konfiguration der Oberfläche zunächst die Zahl der Knoten bzw. Kanten reduziert wird. Dazu wird

²Die Form minimaler Energie von Gleichung 4.18 ist eine Kugel.

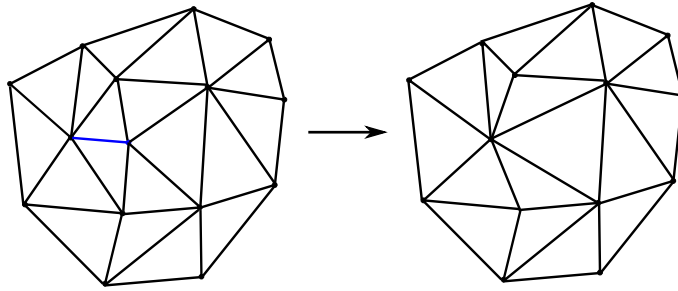


Abbildung 4.17: Schematische Darstellung des Verfahrens zur Knotenreduktion. Die blaue Kante wird vernichtet und durch einen Knoten ersetzt. Dabei verschwinden die zwei Dreiecke, die an die blaue Kante angrenzen.

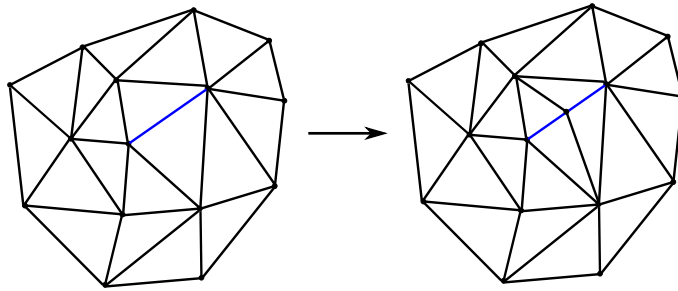


Abbildung 4.18: Schematische Darstellung des Verfahrens zur Erhöhung der Knotenzahl. In der Mitte der blauen Kante wird ein zusätzlicher Knoten erzeugt und diese damit in zwei Kanten gesplittet. Es entstehen zwei neue Dreiecke.

das in Kapitel 3 beschriebene Verfahren zur Knotenreduktion verwendet. In der GTS Library existiert eine Funktion, die dieses Verfahren implementiert. Dieser Algorithmus wurde so entworfen, dass er die Form der Oberfläche möglichst unverändert lässt, daher werden bevorzugt sehr kurze Kanten bzw. solche in Regionen mit einer hohen Dichte von Knoten vernichtet. Da bei der Vernichtung einer Kante diese durch einen Knoten ersetzt wird, sinkt gleichzeitig die Zahl der Knoten um eins. Eine Veranschaulichung des Verfahrens findet sich in Abbildung 4.17.

Bestand die Triangulation zu Beginn des Verfahrens aus N_K Kanten, so wird die Prozedur so oft wiederholt, bis eine vorher festgelegte, minimale Zahl von Kanten N_K^{min} erreicht ist. Anschließend wird durch einen weiteren Algorithmus die Zahl der Knoten bzw. Kanten wieder erhöht. Dazu werden alle Kanten nach ihrer Länge sortiert in einer Prioritätenliste gespeichert, mit der längsten Kante an erster Stelle. Das Verfahren zur Erhöhung der Knotenzahl beginnt dann mit dieser Kante. In ihrer Mitte wird ein neuer Knoten erzeugt und damit werden aus der einen Kante zwei neue Kanten. Anschließend werden neue Kanten und Dreiecke erzeugt um die Triangulierung wieder zu komplettieren, siehe Abbildung 4.18. Die gesplittet Kante wird dann aus der Prioritätenliste gelöscht und die beiden neuen Kanten werden der Liste gemäß ihrer Länge an der korrekten Position hinzugefügt.

Dieses Verfahren wird mit der jeweils längsten Kante so lange wiederholt, bis die ursprüngliche Zahl der Kanten N_K wieder erreicht ist.

Durch die beschriebene Kombination der Verfahren zur Reduktion und Erhöhung der Knotenzahl wird effektiv eine Umordnung der Knoten erreicht. Bei der Reduktion werden hauptsächlich kurze Kanten gelöscht und damit die Zahl der Knoten in Regionen mit hoher Dichte verringert. Das Verfahren zur Erhöhung der Zahl splittet lange Kanten durch Erzeugung eines zusätzlichen Knotens in der Mitte und erhöht so die Anzahl der Knoten in Abschnitten mit geringer Knotendichte.

Allgemein werden sowohl bei der Knotenreduktion als auch bei der umgekehrten Prozedur die Kanten gemäß einer Kostenfunktion in der Prioritätenliste angeordnet. Im Fall der Erhöhung der Zahl der Kanten ist diese Kostenfunktion einfach die Länge der Kante und die Kante mit den maximalen Kosten wird an die erste Stelle gesetzt, die Kosten fallen dann mit steigendem Platz in der Liste. Für die Knotenreduktion ist die Kostenfunktion komplexer, für Details siehe Kapitel 2.2.3.

Im Prinzip können in unserem Modell beliebige Kostenfunktionen zur Anordnung der Kanten verwendet werden, z.B. kann auch für die Knotenreduktion die Länge der Kanten benutzt werden. Hier würde dann die kürzeste Kante an die erste Stelle der Liste gesetzt werden und in Folge dessen auch als erste vernichtet werden, dann die zweit kürzeste, etc. Es wurde auch versucht, die Krümmung an den beiden Knoten jeder Kante in die Kostenfunktion einfließen zu lassen, mit dem Ziel, dass die Zahl der Knoten an Stellen mit hoher Krümmung erhöht wird und an solchen mit geringerer Krümmung verringert. Allerdings hat sich gezeigt, dass die letztendlich verwendeten Funktionen die besten Ergebnisse liefern.

In Abbildung 4.19 ist die Entwicklung der triangulierten Oberfläche in den Simulationen mit Curvature-Modell zu sehen. Zunächst entwickelt sich die Membran von der rekonstruierten Form hin zu einer Kugel. Dies ist die im Curvature-Modell für eine freie Membran zu erwartende Form und zeigt, dass die Dynamik der Oberfläche korrekt implementiert wurde. Die Verteilung der Knoten ist zunächst noch sehr inhomogen, aktiviert man allerdings den Algorithmus zur Knotenumordnung wird die Verteilung der Knoten auf der Oberfläche sehr viel gleichmäßiger.

Nanoröhren

Das Modell soll nun so erweitert werden, dass die Bildung von Nanoröhren simuliert werden kann. Diese werden primär von Aktinfilamenten erzeugt. Um das Modell möglichst einfach zu halten wurde allerdings auf die explizite Modellierung des Aktinnetzwerks verzichtet. Stattdessen sind die Aktinfilamente implizit berücksichtigt worden durch ihre Wirkung auf die Zellmembran. Wächst ein Aktinfilament gegen die Membran, so übt das Filament eine konstante Kraft auf die Membran aus. Dies wurde im Modell implementiert indem zunächst ein Raumwinkelbereich definiert wurde, in welchem die Kraft auf die Membran wirksam sein soll.

$$\Delta\Omega = \{(x, y, z) \in \mathbb{R}^3 | \varphi \in [\phi, \phi + \Delta\phi], \vartheta \in [\theta, \theta + \Delta\theta]\}$$

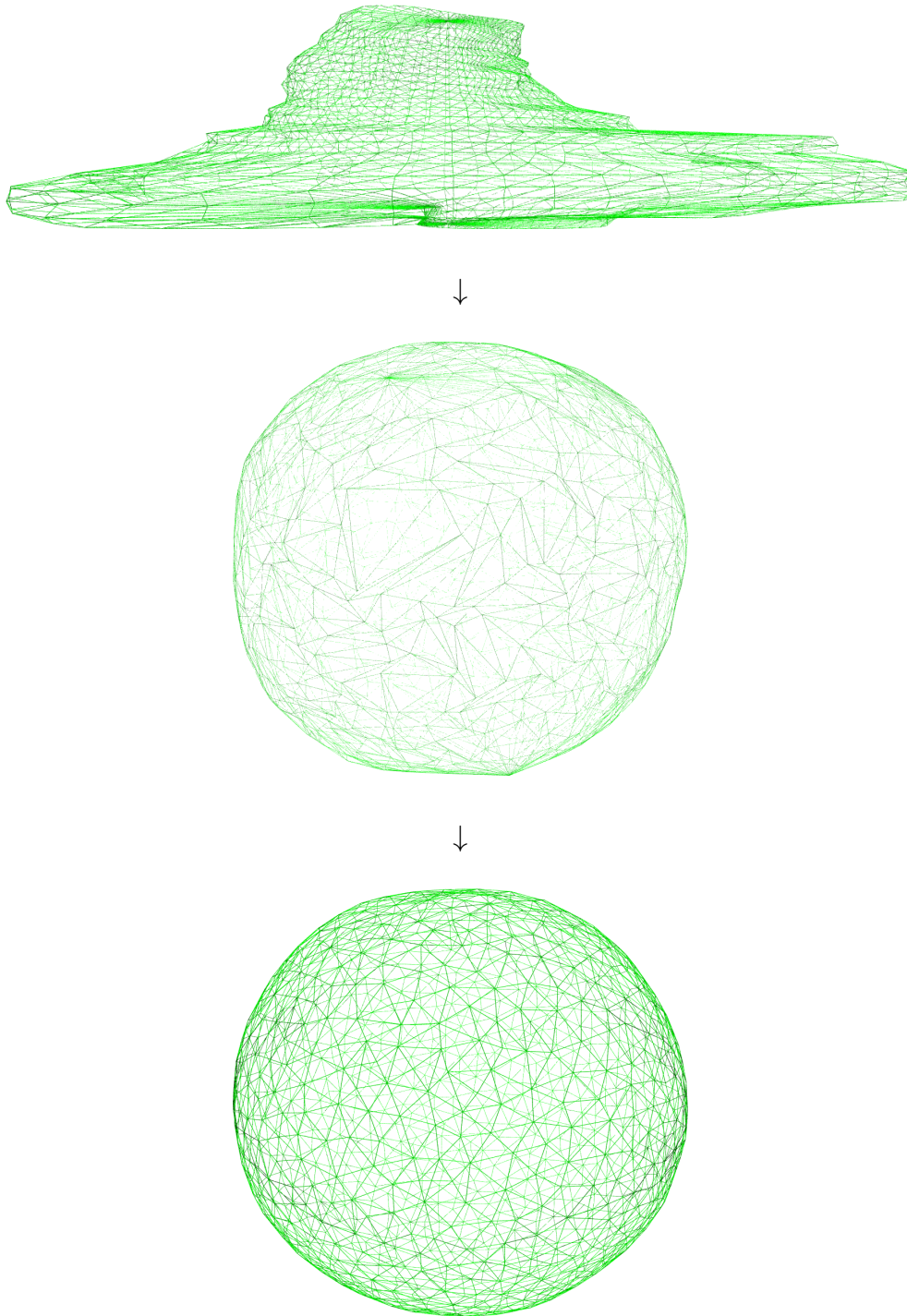


Abbildung 4.19: Beispielhafte Entwicklung der triangulierten Oberfläche in den Simulationen mit Curvature-Modell. Die rekonstruierte Form entwickelt sich unter freien Randbedingungen zunächst zu einer Kugel. Die Verteilung der Knoten auf der Oberfläche wird aber zunehmend inhomogener. Aktiviert man zusätzlich das Verfahren zur Umordnung der Knoten wird die Verteilung wieder deutlich homogener.

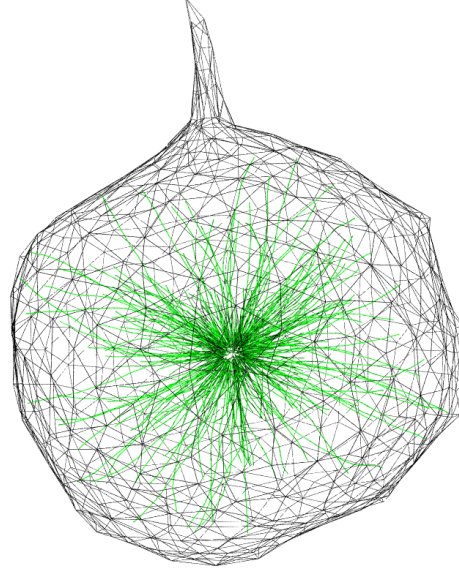


Abbildung 4.20: Durch eine leichte Anpassung des Modells kann die Bildung von Membranröhren simuliert werden. Dafür wird eine durch das Aktinnetzwerk erzeugte, radial nach außen wirkende und räumlich lokalisierte Kraft hinzugefügt. Im Wirkungsbereich der Kraft bildet sich dann eine Membranröhre.

Die Wirkung des Aktins wird als konstante, radial nach außen wirkende Kraft angenommen.

$$\vec{F}_a = f\vec{e}_r$$

Die zu dieser Kraft gehörende potentielle Energie E_a ergibt sich durch Integration von F_a entlang von \vec{e}_r

$$E_a = - \int_S \vec{F}_a d\vec{r}' = -f \int_0^r \vec{e}_{r'} \vec{e}_{r'} dr' = -fr$$

Für jeden Knoten \vec{r}_i der Triangulation, der innerhalb der Bereiches $\Delta\Omega$ liegt wird die Energiefunktion durch Addition von E_a modifiziert.

$$E_i = \begin{cases} \frac{\kappa_i}{2}(2H_i)^2\Delta A_i + \sigma_i\Delta A_i - fr_i & \vec{r}_i \in \Delta\Omega \\ \frac{\kappa_i}{2}(2H_i)^2\Delta A_i + \sigma_i\Delta A_i & \vec{r}_i \notin \Delta\Omega \end{cases} \quad (4.20)$$

Dabei ist r_i der Abstand von Knoten \vec{r}_i vom Massenmittelpunkt der Zelle (Ursprung) also $r_i = |\vec{r}_i|$.

Abbildung 4.20 zeigt das Ergebnis dieser Modifikation. Im ausgewählten Raumwinkelbereich bildet sich ein röhrenartiger Fortsatz. Diese Röhre ist zeitlich stabil und ihre radiale Ausdehnung ist von der Wahl der Oberflächenparameter abhängig, insbesondere von den durch Aktin ausgeübten Kräften.

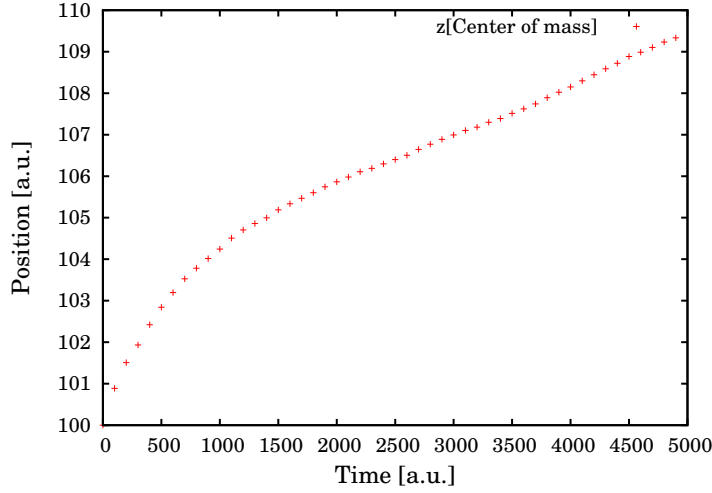


Abbildung 4.21: Mit Hilfe einer ähnlichen Anpassung wie zur Erzeugung einer Nanoröhre kann die Fortbewegung von Zellen simuliert werden. Dazu wird eine Kraft hinzugefügt, die parallel zur z-Achse gerichtet ist und auf alle Knoten der Oberfläche mit positiver z-Koordinate wirkt. Dadurch wird die Membran in positive z-Richtung gedrückt und durch ein gleichzeitiges Nachlaufen der Knoten mit negativer z-Koordinate bewegt sich die Zelle in positiver z-Richtung.

Zellfortbewegung

Durch eine ähnliche Modifikation der Energiefunktion der Oberfläche wie im vorangegangenen Abschnitt über Nanoröhren lässt sich im Modell auch die Fortbewegung von Zellen abbilden. Um dies zu erreichen, wird keine radiale Kraft angenommen sondern eine Kraft, die parallel zur z-Achse des Koordinatensystems in positive Richtung zeigt. Auch diese Kraft, die dazu führt, dass sich die Zelle fortbewegt, wird von Aktinfilamenten verursacht, die gegen die Zellmembran drücken.

$$\vec{F}_a = f\vec{e}_z$$

Analog ergibt sich die zugehörige potentielle Energie durch Integration von \vec{F}_a entlang von \vec{e}_z .

$$E_a = - \int_S \vec{F}_a d\vec{r}' = -f \int_0^z \vec{e}_z' \vec{e}_z' dz' = -fz$$

Eine Bewegung der Zelle erhält man dann, indem man diese Kraft auf alle Knoten der Oberfläche mit positiver z-Koordinate anwendet wobei der Ursprung der Koordinatensystems immer im Schwerpunkt der Zelle liegt. Die Energiefunktion ergibt sich dann zu:

$$E_i = \begin{cases} \frac{\kappa_i}{2}(2H_i)^2\Delta A_i + \sigma_i\Delta A_i - fz_i & z_i > 0 \\ \frac{\kappa_i}{2}(2H_i)^2\Delta A_i + \sigma_i\Delta A_i & z_i \leq 0 \end{cases} \quad (4.21)$$

Dies entspricht einem koordinierten Wachstum des Aktinnetzwerkes in z-Richtung. Dadurch wird die Membran in positiver z-Richtung ausgedehnt, dies führt zu einer

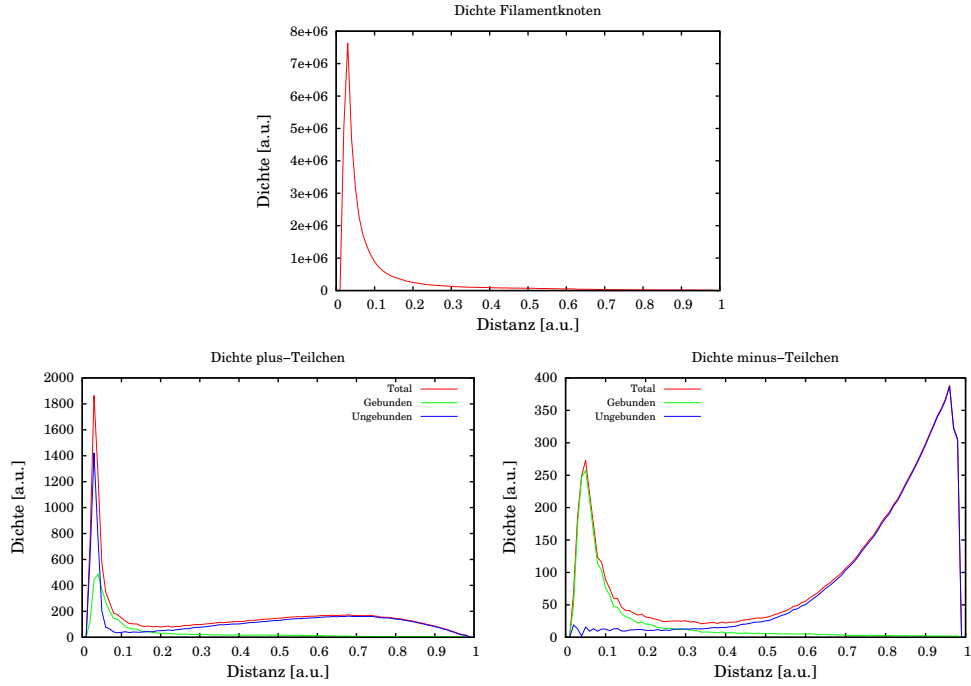


Abbildung 4.22: Filament- und Motorendichte im Curvature-Modell. Die Ergebnisse unterscheiden sich qualitativ nicht von Simulationen im Federnetzwerkmodell und im statischen Modell.

Streckung der Membran und einem energetisch ungünstigen Zustand. Um dem entgegenzuwirken laufen die Knoten mit negativer z-Koordinate der Kraft quasi hinterher wodurch sich die Zelle effektiv in positiver z-Richtung bewegt.

Transportsimulationen

Schließlich kann das Transportmodell auch mit der mittels Curvature-Modell modellierten Membran kombiniert werden. Da sich die Form der Zelle zu einer Kugel entwickelt, finden die Simulationen hier letztlich wieder in einer sphärischen Geometrie statt. Die Ergebnisse in Abbildung 4.22 gleichen qualitativ denen aus dem statischen Modell in Abbildung 4.12 und denjenigen aus dem dynamischen Modell mit Federnetzwerk in Abbildung 4.16. Die morphologische Gestalt der Zelle scheint also zumindest im Rahmen des Modells keinen Einfluss auf die Transporteigenschaften zu haben.

4.5 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Entwicklung eines dreidimensionalen Simulationsmodells zur Untersuchung des intrazellulären Transports vorgestellt. Die wichtigsten Bestandteile dieses Modells sind eine triangulierte Zellmembran, deren Ausgangsform aus

Mikroskopieaufnahmen gewonnen wurde und ein Modell für intrazellulären Transport bestehend aus MTOC, Mikrotubulifilamenten und den molekularen Motoren Kinesin und Dynein. Durch die Definition einer Energiefunktion für die triangulierte Zellmembran wurde das Modell um die Möglichkeit erweitert, eine dynamische Membran zu simulieren. Da durch die Dynamik der Triangulierung die Knotendichte zunehmend inhomogener wird, ist zusätzlich eine Methode zur Knotenumordnung implementiert worden, die dafür sorgt, dass die Knotendichte weitgehend homogen bleibt.

Die für die Simulation verwendete Triangulierung besteht aus 1352 Knoten, 4050 Kanten und 2700 Dreiecken. Prinzipiell kann das Modell auch feinere Triangulierungen mit mehr Knoten, Kanten und Dreiecken erzeugen und verwenden allerdings erhöht sich dadurch im Fall der dynamischen Triangulierung die Rechenzeit. Die verwendete Konfiguration stellt einen guten Kompromiss zwischen Feinheit und Rechenzeit dar. In der Regel wurden in den Simulationen 162 Mikrotubulie erzeugt. Die Anzahl der Knoten pro Mikrotubulus variiert abhängig von Parametern wie Persistenzlänge oder der Raten für Rettung und Katastrophe zwischen einigen hundert und einigen Tausend³.

Für die Energiefunktion der Zellmembran wurden zwei verschiedene Möglichkeiten evaluiert, ein Federnetzwerkmodell und das sogenannte Curvature-Modell. Im Federnetzwerkmodell müssen für die Berechnung der Energie Quadrate der Kantenlängen berechnet werden, was vergleichsweise sehr schnell geht. Das Curvature-Modell dagegen erfordert die Auswertung trigonometrischer Funktionen, was numerisch enorm aufwendig ist. Tatsächlich ist die Berechnung der Energie im Curvature-Modell die mit Abstand aufwändigste, d.h. zeitintensivste Routine im ganzen Modell. Im Vergleich dazu waren auch die Funktionen aus der für die Triangulierung verwendeten C-Bibliothek, z.B. Inside-Out-Test oder Knotenumordnung, sehr schnell.

Neben der Verwendung zur Simulation von intrazellulären Transport in realer Geometrie wurden zwei weitere potentielle Anwendungen des Modells demonstriert, die Simulation der Entstehung von Nanoröhren und die Fortbewegung von Zellen. Beides zeigt die Flexibilität der entwickelten Simulationsumgebung. Durch zusätzliche Erweiterungen sind in Zukunft auch weitere Anwendungen denkbar, z.B. die Inkorporation von Nanopartikeln in Zellen.

Abschließend sei noch ein kurzer Vergleich mit dem Modell von Francois Nedelec ([121], [152]) gegeben. Dieses Modell wurde entwickelt, um die Strukturen zu verstehen, die molekulare Motoren und Mikrotubuli in eukaryotischen Zellen bilden und die in einem selbst organisierten Prozess entstehen.

Ähnlich wie im hier vorgestellten Modell beschreibt das Nedelec-Modell daher die Interaktion von molekularen Motoren und Mikrotubuli. Das Modell verwendet allerdings Motorkomplexe, die an zwei Mikrotubuli binden können und berücksichtigt auch explizit die dadurch auf die Mikrotubuli ausgeübten Kräfte welche die Mikrotubuli verbiegen und auch fortbewegen können. Durch diese Form der Interaktion können sich die Mikrotubuli zu komplexen Strukturen verbinden und anordnen.

Das Nedelec-Modell verwendet keine reale Geometrie sondern eine quadratische Simulationsbox. Prinzipiell wäre es auch möglich und sicherlich interessant diese Form der

³Es war hier nicht das Ziel, die biologischen Gegenbeobachtungen in der Zelle exakt zu reproduzieren.

Motor-Mikrotubuli Wechselwirkung in das hier entwickelte Modell zu integrieren und die Selbstorganisationsprozesse dann in einer realen Geometrie zu studieren.

Kapitel 5

Adhäsion von *Staphylococcus aureus* auf hydrophoben Oberflächen

Im Rahmen des im Folgenden beschriebenen Projektes wurde untersucht, wie das Gram-Positive Bakterium *Staphylococcus aureus* (S. aureus) auf hydrophoben Oberflächen anhaftet. Im Hinblick auf die zunehmenden Probleme mit MRSA-Keimen im klinischen Bereich ist ein tiefergehendes Wissen über diesen Prozess von großer Bedeutung. Unsere Herangehensweise an dieses Problem erfolgte auf zwei Ebenen, einmal durch Experimente und zum zweiten durch Modellierung des experimentellen Systems und anschließender Simulation des erhaltenen Modells mittels Monte-Carlo Verfahren.¹

5.1 Experiment

Eine wirksame Methode zur Charakterisierung der Adhäsion von Bakterien ist die Kraftspektroskopie mittels Rasterkraftmikroskop (AFM). Dabei wird mit Hilfe eines AFM die Kraft zwischen Oberfläche und Bakterienprobe gemessen. Die Probe besteht aus einem einzelnen Bakterium, das am Cantilever des AFM befestigt ist. Eine Beschreibung des experimentellen Aufbaus und der Durchführung des Experiments wird im folgenden Abschnitt gegeben. Diese ist bewusst kurz gehalten, da der Fokus dieser Arbeit auf Modellierung und Simulation liegt. Für weitergehende Information bezüglich des Experiments sei auf die genannten Referenzen verwiesen.

5.1.1 Aufbau

Oberflächen

Als Oberflächen wurden in den Experimenten Siliziumwafer verwendet. Diese haben eine sehr geringe Rauigkeit und sind kommerziell verfügbar in gleichbleibender Qualität (Siltronic AG, Burghausen, Deutschland). Diese Eigenschaften sind wichtig im Hinblick

¹Die hier beschriebenen Experimente wurden von Nicolas Thewes am Lehrstuhl von Prof. Dr. Karin Jacobs an der Universität des Saarlandes ausgeführt. Die Entwicklung des Modells sowie dessen Simulation wurde von mir durchgeführt.

auf die Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Experimente.

Die Wafer wurden hydrophobisiert durch eine sich selbst aufbauende Monolage aus OTS Molekülen deren CH_3 -Gruppe entfernt wurde [90]. Für die Kraftmessungen wurden die hydrophoben Siliziumwafer in eine phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) eingebracht.

Bakterienprobe

Die hier verwendeten Bakterienproben entstammen dem *S. aureus* Stamm SA113. Dieser Stamm ist zellinvasiv und bildet Biofilme aus. Er wird daher häufig für Laboruntersuchungen verwendet.

Für eine detaillierte Beschreibung, z.B. zur Präparation des Cantilevers mit nur einem Bakterium siehe [157].

Kraftspektroskopie

Zur Messung der Kraft-Abstandskurven wurde ein Bioscope Catalyst AFM (Bruker Nano, Santa Barbara, CA) verwendet. Der Cantilever wurde über eine Distanz von 800 nm bewegt, sowohl beim Annähern an die Oberfläche als auch beim Zurückziehen. Dabei wurden jeweils 1024 Datenpunkte aufgenommen. Die Geschwindigkeit des Cantilever lag bei 400 nm s^{-1} . Sobald der eingestellte Krafttrigger beim Annähern erreicht war, begann das AFM mit dem Zurückziehen des Cantilevers. Ein positiver Krafttrigger bedeutet dabei eine repulsive Kraft auf den Cantilever. Kurven mit positivem Trigger werden im folgenden als Standardkurven bezeichnet. Daneben kann der Krafttrigger auf negative Werte gesetzt werden, was einer anziehenden Kraft auf den Cantilever entspricht. Bei diesen Partialkurven wird bereits im anziehenden Teil der Annäherungskurve der Rückzugprozess gestartet. Eine genaue Beschreibung der gemessenen Kurven findet sich im nächsten Abschnitt.

5.1.2 Durchführung und Ergebnisse

Ein Beispiel einer experimentellen Kraft-Abstandskurve ist in 5.1 zu sehen. Diese Kurve kann anhand der Eigenschaften der Bakterienhülle erklärt werden. Die Zellwand von *S. aureus* ist mit zahlreichen Makromolekülen unterschiedlicher Sorten besetzt und an diesem Punkt setzt unsere Modellierung an [156, 158].

Auf Grund ihrer Heterogenität sind die Makromoleküle durch thermische Fluktuationen unterschiedlich weit ausgelenkt. Beim Annähern an die Oberfläche beginnen die Moleküle mit der größten Auslenkung als erstes mit der Oberfläche zu wechselwirken. Durch ihr Anbinden an die Oberfläche wird das Bakterium in Richtung der Oberfläche gezogen. Dies markiert den Beginn des sogenannten snap-in Prozesses, Punkt (1) in Abbildung 5.1.

Durch die nun verringerte Distanz zwischen Oberfläche und Bakterium können weitere Makromoleküle an die Oberfläche binden und das Bakterium wird immer näher an die Oberfläche herangezogen. Dies geschieht zusätzlich zur Annäherung durch die Bewegung des Cantilevers. Der snap-in ist kein instantaner Effekt sondern ein zeitlich

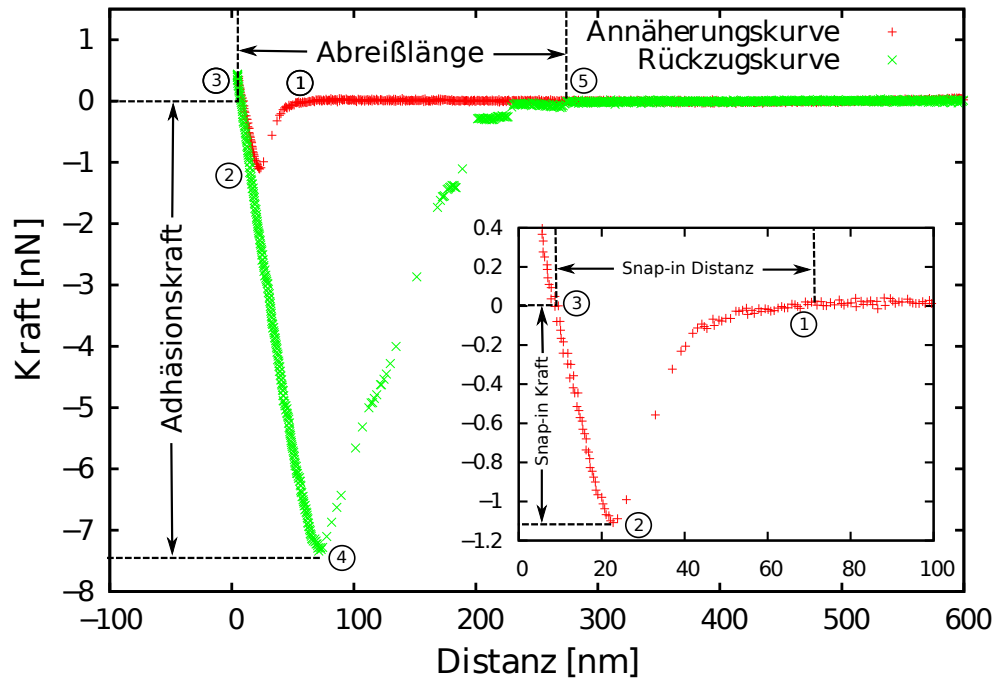


Abbildung 5.1: Beispielhafte experimentelle Standardkurve zur Erklärung der relevanten Größen. Annäherungskurve in Rot, Rückzugskurve in Grün. Der Inset zeigt die Annäherungskurve separat.

ausgedehnter Prozess. Es werden dutzende Datenpunkte während der Messung aufgenommen, deren zeitlicher Abstand in der Größe von 10^{-3} s liegt. Der räumliche Abstand der Messpunkte ist dagegen nicht konstant sondern hängt davon ab, an welchem Punkt der Kurve man sich befindet, vgl. Abbildung 5.1.

Mit weiterer Annäherung an die Oberfläche kommt es zur Kompression einzelner Makromoleküle. Diese Moleküle wirken dann nicht mehr anziehend sondern repulsiv auf das Bakterium. Ab einem bestimmten Punkt werden mehr Moleküle komprimiert als neue an die Oberfläche anbinden. Hier wird das Minimum des snap-in Prozesse erreicht, Punkt (2) in Abbildung 5.1. Die zugehörige Kraft wird als snap-in Kraft bezeichnet. Die weitere Annäherung an die Oberfläche führt nun hauptsächlich zu einer Komprimierung der Makromoleküle und der repulsive Anteil an der Gesamtkraft steigt weiter an bis dieser schließlich den anziehenden Teil übersteigt und die Gesamtkraft repulsiv wird ((3) in 5.1). Bei der Messung einer Standardkurve wird die Annäherung gestoppt wenn der eingestellte positive Krafttrigger, welcher einer repulsiven Gesamtkraft entspricht, erreicht wird.

Durch das jetzt beginnende Zurückziehen des Cantilevers werden die komprimierten Makromoleküle wieder entfaltet bzw. ausgelenkt. Schnell wird der Punkt erreicht, an dem die Gesamtkraft wieder anziehend wird und mit weiterem Zurückziehen des Cantilevers werden die Moleküle mehr und mehr ausgelenkt und die Kraft steigt an. Während dieses Prozesses beginnen die Moleküle sich von der Oberfläche zu lösen. Wenn sich immer mehr Makromoleküle von der Oberfläche ablösen führt dies zu einer

reduzierten Steigung der Kurve und an einem bestimmten Punkt wird ein Minimum der Kraft erreicht (Adhäsionskraft, (4) in Abbildung 5.1). Die Zahl der gebundenen Moleküle reduziert sich jetzt so schnell, dass die gemessene Kraft immer kleiner wird. Bei einem gewissen Abstand zur Oberfläche, Abreißlänge genannt, sind alle Makromoleküle von der Oberfläche gelöst und das Bakterium ist nicht mehr an die Oberfläche gebunden ((5) in Abbildung 5.1).

Auf Grund der Heterogenität der bakteriellen Zellwand haben Kurven für verschiedene Bakterienproben ein unterschiedliches Aussehen, selbst für solche die der selben Bakterienkultur entstammen. Für dieselbe Probe sind die Kurven in der Regel relativ robust, vgl. Abbildung 5.5.

Vergleicht man jedoch Mittelwerte zeigen sich Unterschiede für verschiedene Arten von Bakterien. Zum Beispiel hat der pathogene *S. aureus* eine weitaus größere Adhäsionsfähigkeit als der nicht-pathogene *S. carnosus*, vgl. [156].

Die dieser Erklärung zu Grunde liegende Modellvorstellung wurde in einem konkreten Modell formalisiert und dieses Modell dann näher untersucht. Ein solches Modell ist für die weitere Analyse des Systems von hoher Relevanz, da eine tiefere, experimentelle Untersuchung des biologischen Systems nur begrenzt möglich ist. Es fehlen hierzu schlicht zu viele Informationen über z.B. Zahl der Moleküle in der Zellwand, deren mechanische Eigenschaften, Verteilung der Moleküle in der Zellwand, Form und Stärke des Oberflächenbindungspotentials.

Im folgenden Kapitel wird das von uns entwickelte Modell definiert und die Ergebnisse unserer Analysen dargestellt. Dort werden auch weitere experimentelle Ergebnisse gezeigt und direkt mit den Resultaten des Modells verglichen. Die hier gezeigte Beispielkurve soll hauptsächlich dazu dienen Begriffe einzuführen und Größen zu definieren.

5.2 Modelldefinition und Simulation

Die Grundidee unseres Modells ist die Annahme, dass die Makromoleküle in der Zellwand der Bakterien als elastische Federn, die einem linearen Kraftgesetz folgen, beschrieben werden können, die stochastisch an die Oberfläche binden. Dabei dienen die Federn als Ersatzschaltbild für die mechanischen Eigenschaften der Proteine. Es ist nicht unser Ziel ein vollständiges Protein mit sämtlichen Eigenschaften zu modellieren. Für uns von Interesse sind nur die mechanischen Eigenschaften, und hier speziell das Verhalten bei Anwendung einer Punktkraft. Die Beschreibung dieses Verhaltens als lineare Feder ist die einfachst mögliche Annahme und da das Modell möglichst einfach gehalten werden soll unsere Methode der Wahl.

Da weder bekannt ist, welche Art von Proteinen für das Anhaften an Oberflächen verantwortlich sind noch man etwas über deren mechanische Eigenschaften weiß, müssen die möglichen Federkonstanten im Modell durch Anpassung der simulierten Kurve an das Experiment bestimmt werden.

Auf Basis dieser Annahme wurde ein Minimalmodell entworfen, welches nur die wichtigsten Bestandteile des Experiments abbildet und möglichst einfach gehalten werden soll, d.h. falls es für eine Eigenschaft mehrere Modellierungsansätze gibt, die die ex-

perimentellen Ergebnisse reproduzieren, wird der einfachste Ansatz für das Modell gewählt.

Der Cantilever des AFM wird durch eine lineare Feder mit Federkonstante k_c und Ruhelänge $l_0^c = 0$ dargestellt. Das Bakterium modellieren wir als Kugel mit Radius R . Dies entspricht den realen Gegebenheiten, das untersuchte Bakterium *Staphylococcus aureus* hat einen sehr hohen Innendruck, welcher zu einer sphärischen Form mit nur sehr geringer Elastizität führt. Bei den im Experiment auftretenden Kräften sollte das Bakterium daher nicht deformiert werden. Die Modellannahme des Bakteriums als starre Kugel ist also wohl begründet.

Die Makromoleküle in der Zellwand werden wie bereits erwähnt in linearer Näherung als Hook'sche Federn modelliert. Zwei der wichtigsten Parameter unseres Modells sind die Wahl der Federkonstanten und Ruhelängen dieser Federn. Jedem Makromolekül wird eine zufällige Federkonstante k_i und zumindest im Prinzip eine zufällige Ruhelänge l_0^i zugeordnet. Die k_i 's sind gleichverteilte Zufallszahlen in einem Intervall $[k_{min}, k_{max}]$. Eine solche Verteilung von Federkonstanten ist die einzige Möglichkeit, die wir gefunden haben um die Form der experimentellen Kurven zu reproduzieren. Für die in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse wurde in der Regel allen Federn die gleiche Ruhelänge l_0^i zugeordnet, falls nicht explizit darauf hingewiesen werden. Die Ruhelängen der Federn bzw. die räumlichen Ausdehnungen der Oberflächenproteine sind ebenfalls nicht bekannt. Auch hier müssen mögliche Werte durch einen Vergleich mit den experimentellen Ergebnissen bestimmt werden.

Die Gesamtzahl der im Modell betrachteten Federn wird mit N bezeichnet, wobei ein Vergleich mit der tatsächlichen Anzahl an Proteinen in der Zellwand nicht möglich ist, da diese Zahl nicht bekannt ist. Die hier verwendete Zahl von Federn kann also durchaus signifikant von der tatsächlichen Zahl der bindenden Makromoleküle abweichen. Im Modell ist ein Ende der Feder in der Zellwand verankert, das zweite Ende zeigt in Richtung Substrat. Die Federn sind immer parallel zur z -Achse ausgerichtet. Es werden also keine lateralen Bewegungen zugelassen und die Auslenkung sowie Kontraktion der Federn erfolgt immer parallel zur z -Achse. Im Zusammenhang mit den ebenfalls untersuchten rauen Oberflächen ist noch zu beachten, dass die Federn nur auf Flächenabschnitten binden, die parallel zur x - y -Ebene sind.

Die Ankerpunkte der Federn in der Zellwand sind zufällig über diese gleichverteilt, zur Erzeugung der Punkte wurde der Box-Mueller Algorithmus verwendet [85]. Über die räumliche Verteilung der Proteine auf der Bakterienoberfläche ist letztlich kaum etwas bekannt, die Verwendung einer Gleichverteilung stellt wieder die einfachst mögliche Annahme dar.

Um die Laufzeiten der Simulationen in Grenzen zu halten, wurde nur ein Teil der Bakterienoberfläche mit Federn besetzt, d.h. wir haben die möglichen z -Koordinaten der Ankerpunkte in der Zellwand auf das Intervall $[-R, u \cdot R]$ mit $u \in [-1, 0]$ beschränkt.² Im Folgenden wird ein Koordinatensystem verwendet, welches in Abbildung 5.2 dargestellt ist: Das Substrat befindet sich in der x - y -Ebene bei $z=0$ und der Cantilever startet an Position $(0, 0, z_c = z_{max})$. Das Bakterium ist am Cantilever befestigt und seine

²Hier werden die Positionen der Ankerpunkte relativ zum Zentrum des Bakteriums angegeben.

Anzahl an Federn N	3000
Ruhelänge der Federn l_0^i	30 nm
Maximale Federkonstante k_{max}	0.001 nN/nm
Minimale Federkonstante k_{min}	$5 * 10^{-6}$ nN/nm
Ruhelänge des Cantilevers l_0^c	0 nm
Federkonstante des Cantilevers	0.03 nN/nm
Radius des Bakteriums	500 nm
Reichweite des Bindungspotentials	3 nm
Tiefe des Bindungspotentials	$-14 k_B T$

Tabelle 5.1: Standardwerte der Modellparameter.

Anfangsposition ist gegeben durch $d = z_{max} - 2R$.

Als Bindungspotential zwischen Substrat und Makromolekülen wurde ein Kastenpotential gewählt, siehe Abbildung 5.2. Dieses Potential ist das effektive Wechselwirkungspotential von Oberfläche und Proteinen und wird entsprechend durch die Eigenschaften beider Partner bestimmt. Ein Kastenpotential ist die einfachste Form eines Bindungspotentials, ist aber für unser Modell völlig ausreichend und entspricht aufgrund seiner Einfachheit auch unserem grundsätzlichen Modellierungsansatz. Selbstverständlich wurden auch komplexere Potentiale getestet (Lennard-Jones Potential), es stellte sich aber heraus, dass die Ergebnisse robust gegenüber der Wahl des Potentials sind. Daher wurde für das Modell die einfachere Möglichkeit genommen.

Als Standardwerte wurden eine Tiefe von $-14 k_B T$ und eine Reichweite von 3 nm gewählt. Explizit stellt sich das Potential also folgendermaßen dar:

$$V(z) = \begin{cases} 0 & z > 3 \text{ nm} \\ -14 k_B T & 0 \leq z \leq 3 \text{ nm} \\ \infty & z < 0 \end{cases} \quad (5.1)$$

Aufgrund dieses Potentials werden Federn, deren Abstand zum Substrat kleiner als 3 nm ist als gebunden angesehen. Die Energie einer gebundenen Feder ist daher gegeben durch $E_s = \frac{1}{2}(l_i - l_0^i)^2 - 14 k_B T$ und die einer ungebundenen Feder durch $E_s = \frac{1}{2}(l_i - l_0^i)^2$, wobei l_i die aktuelle Länge von Feder i bezeichnet.

Tabelle 5.1 zeigt die Standardwerte aller Parameter, die in den Simulationen verwendet wurden. Sollte an einer Stelle davon abgewichen werden, wird explizit darauf hingewiesen.

Die Werte in Tabelle 5.1 wurden gewählt, da sich damit eine gute Übereinstimmung von Experiment und Simulation ergibt.

Es wurden auch andere Werte getestet. Dabei stellte sich heraus, dass Änderungen in den Parameterwerten nur quantitative Veränderungen der Ergebnisse bewirken, die prinzipielle Form der Kurven bleibt erhalten. Zum Beispiel führt eine größerer Anzahl von Federn oder ein tieferes Potential zu einer höheren Adhäsionskraft, eine kürzere Ruhelänge der Federn resultiert in einer kleineren snap-in Distanz. Eine systematische

Diskussion der Modellparameter findet sich in Kapitel 5.3.7.

Die Wahl von linearen Federn und eines Kastenpotential hat zur Folge, das die Gleichgewichtsposition des Bakteriums, welche die Auslenkung der gebundenen Federn bestimmt, analytisch bestimmt werden kann.

Die Gesamtenergie des Systems besteht aus zwei Teilen, der Krümmungsenergie des Cantilevers und der Energie der ausgelenkten Federn:

$$E = \frac{1}{2} \sum k_i (l_i - l_0^i)^2 + \frac{1}{2} k_c (l_c - l_0^c)^2 \quad (5.2)$$

wobei die Summe über alle gebundenen Federn läuft. Der Beitrag des Bindungspotentials wurde unterdrückt. Da dieses für gebundene Federn konstant ist, spielt es keine Rolle bei der Berechnung der Gleichgewichtsposition.

Berücksichtigt man die Randbedingungen des Modells, welche sich aus Abbildung 5.2 ergeben, kann man die Gesamtenergie umschreiben als Funktion einer Variablen. Wir wählen hier den Abstand des Bakteriums vom Substrat d .

Die z -Position des Cantilevers ist gegeben durch:

$$z_c = l_c + 2R + d \quad (5.3)$$

mit l_c = aktuelle Auslenkung des Cantilevers. Die z -Koordinate z_i des ersten Endes von Feder i ist (Ankerpunkt in der Bakterienoberfläche)

$$d + \Delta d_i = z_i = dz_i + l_i \quad (5.4)$$

mit dz_i = Abstand des zweiten Endes der Feder i vom Substrat, Δd_i = Abstand des ersten Endes der i -ten Feder von der Ebene $z = d$.

Die letztere Größe ist gegeben durch

$$\Delta d_i = R - \sqrt{R^2 - (x_i^2 + y_i^2)} \quad (5.5)$$

mit $x_i, y_i = x, y$ -Koordinate des ersten Endes der i -ten Feder.

Nimmt man all dies zusammen, kann man für die Energie des Systems schreiben:

$$E = \frac{1}{2} \sum k_i (d + \Delta d_i - dz_i - l_0^i)^2 + \frac{1}{2} k_c (z_c - d - 2R - l_0^c)^2 \quad (5.6)$$

Diese Darstellung enthält als Variable nur noch den Abstand d des Bakteriums vom Substrat, alle anderen Größen sind gegebene Parameter der aktuellen Systemkonfiguration. Daher ergibt sich der Gleichgewichtsabstand d_E des Bakteriums vom Substrat für eine gegebene Position des Cantilevers und eine gegebene Konfiguration von gebundenen Federn als

$$d_E = \frac{k_c (z_c - 2R - l_0^c) - \sum k_i (\Delta d_i - dz_i - l_0^i)}{k_c + \sum k_i} \quad (5.7)$$

Die dargestellten Gleichungen sind gültig für eine komplett glatte Oberfläche, die entsprechenden Gleichungen für raue Oberflächen finden sich im Anhang. Dort ist auch

eine Herleitung von Gleichung 5.7 angegeben.

Bei der Simulation des Systems ist zu beachten, dass das Modell drei verschiedene Arten von Freiheitsgraden enthält. Zum einen die Position des Cantilevers, welche wir gemäß des experimentellen Ablaufs aktualisieren, zum zweiten die Position des Bakteriums, welche wir als die Gleichgewichtsposition für eine gegebene Konfiguration von gebundenen Federn und Position des Cantilevers annehmen. Und drittens die stochastische Simulation des Federensembles, wofür wir einen Standard Metropolis-Algorithmus bei Raumtemperatur verwenden.

Der gewählte Simulationsansatz orientiert sich sehr nah am Experiment, im Detail besteht er aus den folgenden Schritten:

1. Man bewegt den Cantilever mit einer Amplitude, die ein hundertstel der Schrittweite im Experiment entspricht³.
2. Man führt 200 MC-Sweeps für die Federn und das Bakterium aus, wobei ein Sweep gegeben ist durch:
 - a) N Updates der Federn:
 - i. Man wählt eine Feder i und eine zufällige Verrückung r .
 - ii. Man bewegt das zweite Ende von Feder i um die Distanz r .
 - iii. Falls erlaubt, also $dz_i > 0$ and $l_i > 0$, akzeptiert man den Move gemäß Metropolis-Algorithmus.
 - iv. Man geht zurück zu (i) bis N Feder-Updates durchgeführt wurden
 - b) Aktualisierung der Position des Bakteriums, d.h. man verschiebt das Bakterium in seine Gleichgewichtsposition.
3. Man geht zurück zu eins, nach jedem hundertsten Schritt des Cantilevers liest man die Konfiguration des Systems aus.

Das Zurückziehen des Cantilevers startet dabei wenn der eingestellte Krafttrigger erreicht ist.

5.2.1 Cut-off Länge

Im bisherigen Grundmodell können die Federn beliebig weit ausgelenkt werden. Diese Annahme ist letztlich unrealistisch. Werden beispielsweise Proteine unter Einfluss einer Punktkraft ausgedehnt, so ist dies nur bis zu einer maximalen Länge, nämlich der Konturlänge des Proteins, möglich.

Eine Möglichkeit, diese Tatsache im Modell abzubilden, besteht in der Einführung einer maximal möglichen Auslenkung der Federn. Wird für gebundene Federn diese Auslenkung erreicht lösen sich diese instantan von der Oberfläche.

³Die Schrittweite in der Simulation ist letztlich auch ein einstellbarer Parameter. Der gewählte Wert stellt eine ausreichend genaue Diskretisierung der Simulation sicher.

Durch diese Erweiterung des Modells ergibt sich eine bessere Übereinstimmung mit dem experimentellen System. Allerdings erhält man einen weiteren Modellparameter, der nicht direkt bestimmt werden kann.

Eine weitere Modifikation des Modells, die an dieser Stelle erwähnt werden soll, ist die Möglichkeit, die Ruhelängen der Federn aus einer Normalverteilung mit beliebigem Mittelwert und beliebiger Varianz zu ziehen, anstatt allen Federn die gleiche Ruhelänge zuzuordnen.

5.2.2 Worm-Like Chain

Lineare Federn sind das einfachste Modell für die mechanischen Eigenschaften von Makromolekülen. Ein besseres bzw. realistischeres und weitaus gebräuchlicheres Modell ist das Worm-Like Chain (WLC)-Modell [84].

In der Anwendung dieses Modells auf unser Problem ergeben sich allerdings einige Schwierigkeiten. In der Literatur finden sich sehr viele Beispiele bei denen das WLC-Modell erfolgreich verwendet wird, um die Kraft-Auslenkungskurven von Polymeren zu beschreiben. Die Auslenkung der Polymere ist dabei definiert als der Abstand der beiden Enden des Polymers und ein Abstand von Null entspricht einer Kraft von Null, d.h. die Ruhelänge ist hier Null. Das WLC-Modell beschreibt daher die Auslenkung von Polymeren aber nicht ihre Komprimierung.

Auch in den theoretischen Rechnungen zum WLC-Modell finden sich keine Resultate wie man die Komprimierung eines Polymers mit Hilfe des WLC-Modells beschreiben kann, es finden sich in der Literatur lediglich Untersuchungen zum Verhalten in stark beschränkten Geometrien, z.B. [53, 115, 133, 149]. Für unser Modell und um die experimentellen Ergebnisse zu erhalten ist es aber essentiell, dass die Federn komprimiert werden können.

Um dies zu erreichen muss das WLC-Modell für die Komprimierung ergänzt werden. Dazu definieren wir eine Ruhelänge l_0 als den Gyrationradius R_g [112] des Polymers, wie er aus dem WLC-Modell erhalten wird. Für Polymerlängen l mit $l < l_0$ verhalten sich die Proteine weiterhin wie lineare Federn, also

$$F(l) = -k * (l - l_0) \quad l < l_0$$

mit k =Federkonstante.

Für Längen $l > l_0$ verhalten sich die Proteine wie vom WLC-Modell beschrieben. Die Kraft-Auslenkungskurve des WLC-Modells kann analytisch exakt berechnet werden, allerdings nicht in geschlossener Form angegeben werden. Es existiert aber eine sehr gute Näherungsformel für die Kurve [104]:

$$F(l) = -\frac{k_B T}{L_P} * \left(\frac{l - l_0}{L} + \frac{1}{4(1 - (l - l_0)/L)^2} - \frac{1}{4} \right) \quad l > l_0 \quad (5.8)$$

Dabei sind L_P die Persistenzlänge und L die Konturlänge des Polymers. Das Minuszeichen am Anfang muss auf Grund unserer Vorzeichenkonvention eingeführt werden, im

Unterschied zu [104].

Der Gyrationradius ergibt sich zu

$$R_g = \sqrt{\frac{L_P L}{3}}$$

und die Federkonstante k zu

$$k = \frac{3k_B T}{2L_P L}$$

Das WLC-Modell ist also durch die Angabe der zwei Parameter L_P und L vollständig bestimmt. Dies gilt nicht nur in der hier verwendeten Näherung sondern auch für das vollständige Modell.

Zusammengefasst wird in dieser Variante also die Auslenkung der Polymere aus der Ruhelänge l_0 durch das WLC-Modell beschrieben und die Komprimierung durch eine lineare Feder.

Zu konkreten Ausführung des Monte-Carlo-Algorithmus ist noch die Kenntnis der potentiellen Energie des Systems notwendig, diese ergibt sich für das betrachtete Modell der Proteine durch Integration der Funktion $F(l)$ bezüglich l :

$$E(l) = \begin{cases} \frac{k_B T}{L_P} \left(\frac{(l-l_0)^2}{2L} + \frac{(l-l_0)^2}{4(L-(l-l_0))} \right) & l > l_0 \\ \frac{1}{2} k * (l - l_0)^2 & l \leq l_0 \end{cases}$$

Dabei wurde die Integrationskonstante so gewählt, dass $E(l)$ für $l = l_0$ stetig differenzierbar ist.

Dies führt auf folgende Gleichung zur Berechnung der Gleichgewichtsposition des Bakteriums:

$$\sum F(l_i) + k_c(l_c - l_0^c) = 0 \quad (5.9)$$

Die Summe läuft hierbei über alle gebundenen Proteine.

Diese Gleichung ist nun nicht mehr analytisch lösbar und es muss auf numerische Methoden zurückgegriffen werden. In unserem Fall wurde ein Bisektionsverfahren verwendet.

5.3 Ergebnisse aus Experiment und Simulation

Im Folgenden werden die Ergebnisse dargestellt welche aus Monte-Carlo Simulationen des eben beschriebenen Modells gewonnen wurden. Ein Teil dieser Ergebnisse wurde bereits veröffentlicht [158].

5.3.1 Verifikation

Wie bereits beschrieben, wurde nur ein Teil der Bakterienoberfläche mit Federn besetzt. In der Standardkonfiguration sind die z -Koordinaten der Federn auf das Intervall

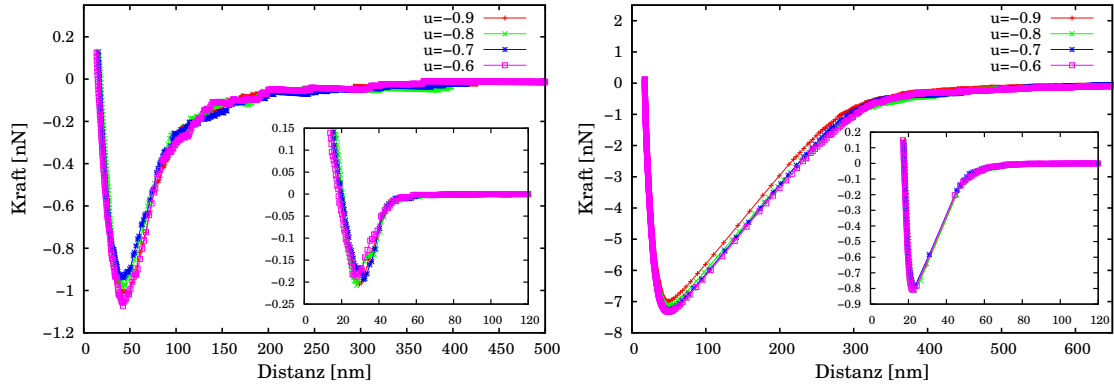


Abbildung 5.3: Vergleich der Rückzugskurven für verschiedene Werte des Parameters u bei konstanter Federdichte. Zahl der Federn für $u = -0.9$ ist $N = 300$ in der linken Abbildung und $N = 3000$ in der rechten Abbildung. Der Inset zeigt die Annäherungskurve.

$[-R, -0.9R]$ beschränkt⁴. Im Folgenden wird gezeigt, dass eine Vergrößerung der besetzten Fläche bei konstanter, homogener Federdichte keine Veränderung der Ergebnisse erzeugt. Dazu berechnen wir zunächst für eine Kugel mit Radius R und Zentrum im Ursprung die Größe der Teiloberfläche, wenn man die z -Koordinate auf das Intervall $[-R, uR]$ mit $u \in [-1, 1]$ einschränkt.

In Kugelkoordinaten ergibt sich damit für den Winkel Θ :

$$\begin{aligned} z &= R \cos(\Theta) \\ \Leftrightarrow \cos(\Theta) &= \frac{z}{R} \\ \Leftrightarrow \Theta &= \arccos\left(\frac{z}{R}\right) \end{aligned}$$

Ist z nun auf das Intervall $[-R, uR]$ eingeschränkt, so ist der Winkel Θ auf das Intervall $[\arccos(u), \pi]$ eingeschränkt. Damit kann die Teiloberfläche der Kugel in Abhängigkeit des Parameters u berechnet werden.

$$\begin{aligned} A_u &= \int_0^{2\pi} \int_{\arccos(u)}^{\pi} R^2 \sin(\Theta) d\Theta d\phi \\ &= 2\pi R^2 \int_{\arccos(u)}^{\pi} \sin(\Theta) d\Theta \\ &= 2\pi R^2 [-\cos(\Theta)]_{\arccos(u)}^{\pi} \\ &= 2\pi R^2 (1 + u) \end{aligned}$$

Für $u=1$ erhält man also die volle Kugeloberfläche $A_1 = 4\pi R^2$, für $u=0$ die Oberfläche der Halbkugel $A_0 = 2\pi R^2$ und für $u = -1$ ist $A_{-1} = 0$.

⁴Wieder sind die Koordinaten relativ zum Mittelpunkt des Bakteriums angegeben.

Parameter u	Anzahl an Federn
-0.9	N
-0.8	$2N$
-0.7	$3N$
-0.6	$4N$

Tabelle 5.2: Anzahl der Federn in Abhängigkeit des Parameters u sodass die Federdichte konstant bleibt.

Damit lässt sich jetzt für verschiedene Werte des Parameters u das Verhältnis der zugehörigen Teilflächen berechnen:

$$\frac{A_{u_1}}{A_{u_2}} = \frac{1 + u_1}{1 + u_2}$$

Will man die Federdichte für verschiedene Werte von u konstant halten, so muss gelten

$$\frac{N_{u_1}}{A_{u_1}} = \frac{N_{u_2}}{A_{u_2}} \Leftrightarrow \frac{N_{u_1}}{N_{u_2}} = \frac{A_{u_1}}{A_{u_2}}$$

mit N_{u_i} = Anzahl der Federn. Wählt man z.B. $u_1 = -0.8$ und $u_2 = -0.9$ so erhält man:

$$\frac{N_{u_1}}{N_{u_2}} = \frac{1 - 0.8}{1 - 0.9} = \frac{0.2}{0.1} = 2$$

Als Standardparameter in den Simulationen wurde $u = -0.9$ gewählt. Bezeichnet man die zugehörige Anzahl von Federn mit N , so zeigt Tabelle 5.2 die nötige Anzahl von Federn damit bei Variation von u die Dichte der Federn konstant bleibt.

Es wurde nun getestet, ob sich die Ergebnisse verändern, wenn bei konstanter, homogener Federdichte der Parameter u variiert wird. Abbildung 5.3 zeigt die Messkurven bei einer Wahl von $N = 300$ und $N = 3000$ Federn für $u = -0.9$. Die Kurven für die verschiedenen Werte von u unterscheiden sich für beide Dichten praktisch nicht.

Es ist also ausreichend in den Simulationen lediglich den Bereich der Kugel mit Federn zu besetzen, für den $z \in [-R, -0.9R]$ gilt.

5.3.2 Lennard-Jones Potential

Das gewählte Kastenpotential stellt das einfachst mögliche Bindungspotential dar und ist eine starke Vereinfachung der realen Situation. Ein weitaus realistischeres Potential ist das sogenannte Lennard-Jones Potential ([78], [79]), welches sich folgendermaßen darstellt:

$$V_{LJ}(z) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{z} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{z} \right)^6 \right] = \epsilon \left[\left(\frac{r_m}{z} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_m}{z} \right)^6 \right]$$

mit $r_m = 2^{1/6}\sigma$.

Abbildung 5.4 zeigt eine schematische Darstellung dieses Potentials. Die Parameter r_m ,

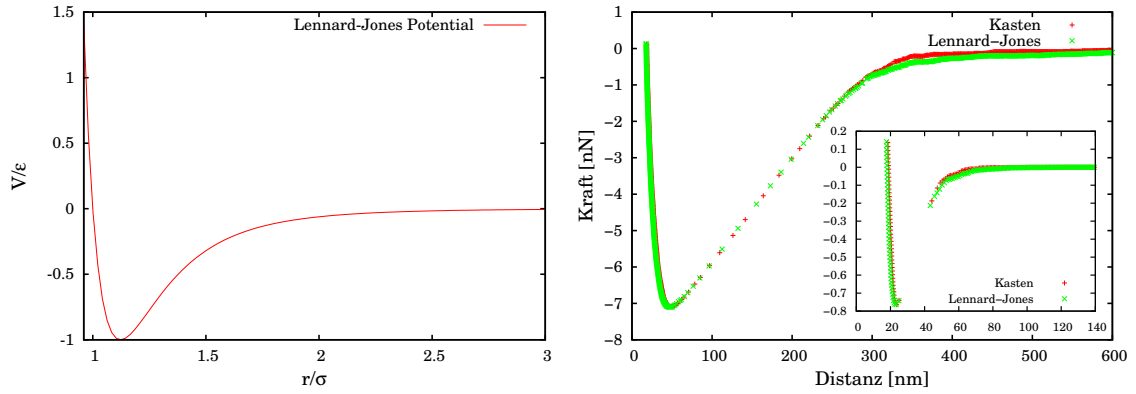


Abbildung 5.4: Links: Darstellung des Lennard-Jones Potentials in dimensionslosen Einheiten. Rechts: Vergleich der simulierten Kurven für Kastenpotential und Lennard-Jones Potential. Die Parameter für das Lennard-Jones Potential sind: $r_m = 1.5 \text{ nm}$ und $\epsilon = 18 k_B T$. Der Inset zeigt die Annäherungskurve separat.

ϵ und σ haben folgende Bedeutung: Das Potential hat ein Minimum der Tiefe $-\epsilon$ an der Stelle r_m . σ ist die Nullstelle des Potentials, d.h. $V_{LJ}(\sigma) = 0$.

Das Lennard-Jones Potential beschreibt ursprünglich die Wechselwirkung zweier elektrisch neutraler Atome oder Moleküle und ist eine Überlagerung eines repulsiven und eines anziehenden Potentials. Der r^{-12} Term ist ein kurzreichweitiger, abstoßender Anteil auf Grund der Überlappung der Atomorbitale (Pauli-Repulsion), der r^{-6} Term beschreibt die langreichweitige, anziehende Wechselwirkung, in der Regel van-der-Waals Kräfte, seltener auch Dipol-Dipol Wechselwirkung.

Für große Entfernungen dominiert der anziehende Term, nähern sich beide Teilchen an, überwiegt ab einer gewissen Entfernung der repulsive Part und die Teilchen stoßen sich ab.

Um zu testen, ob die Wahl eines einfachen Kastenpotentials in unserem Modell ausreichend ist, wurden Simulationen unter Verwendung eines Lennard-Jones Potentials als Bindungspotential durchgeführt und die Ergebnisse mit denjenigen des Kastenpotentials verglichen.

Im Ergebnis erhalten wir keine qualitativen Unterschiede zwischen beiden Potentials. Durch entsprechende Wahl der Parameter im Lennard-Jones Potential können beide Kurven auch quantitativ in Übereinstimmung gebracht werden (Abbildung 5.4). Daher kann im Modell und den Simulationen das einfachere Kastenpotential verwendet werden.

5.3.3 Freies System

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse für das freie System präsentiert, d.h. ein System, in dem sich die Federn unabhängig voneinander in z -Richtung auslenken lassen. Analog zum experimentellen Ansatz wird später ein System betrachtet, in dem die

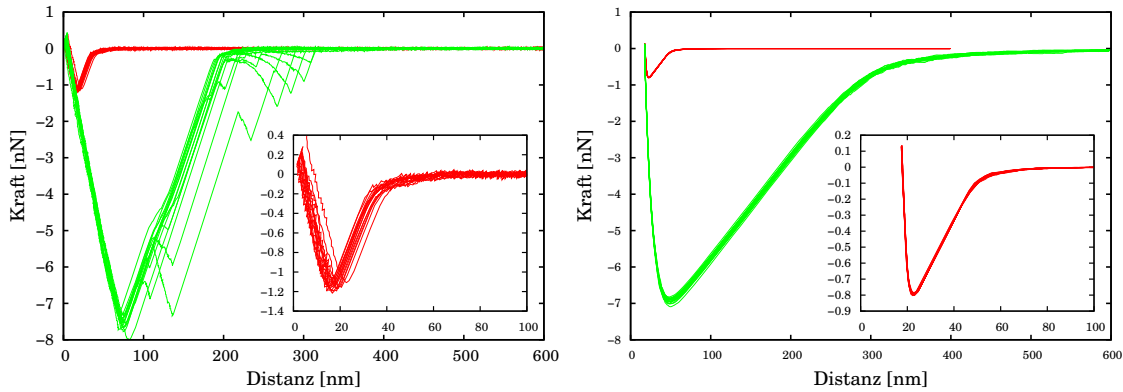


Abbildung 5.5: Links: Überlagerung von 20 experimentellen Kraft-Distanzkurven. Rechts: 20 Kraft-Distanzkurve aus MC-Simulationen des Modells mit Standardparametersatz. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven separat.

Federn verbunden sind und sich das gesamte Federensemble nur noch als Ganzes in z -Richtung auslenken lässt.

Eine aus MC-Simulationen erhaltene Kraft-Distanz-Kurve ist in Abbildung 5.5 zu sehen. Vergleicht man diese Kurve mit dem experimentellen Ergebnis zeigt sich eine bemerkenswerte Übereinstimmung auf qualitativer Ebene. Beide Annäherungskurven starten den snap-in mit kleinem Gradienten der dann bis zum Erreichen der snap-in Kraft ansteigt.

Es ist durchaus möglich eine quantitative Übereinstimmung zwischen experimentellen und simulierten Kurven zu erreichen. Es gibt allerdings im Modell sehr viele freie Parameter, da Größen wie die Dichte oder Zusammensetzung der Oberflächenmoleküle, ihre Reaktion auf äußere Kräfte oder das exakte Bindungspotential nicht bekannt sind. Man wird daher verschiedene Parametersätze finden, die eine gute quantitative Übereinstimmung liefern.

Um die erwähnte Form des snap-in im Modell zu reproduzieren ist es notwendig eine ausreichend breite Verteilung von Federkonstanten zu betrachten. Wählt man eine zu enge Verteilung ohne hinreichend weiche Federn oder sogar für alle Federn die gleiche Federkonstante, so ändert sich die Form des snap-in's, anstatt des glatten Übergangs mit steigendem Gradienten erhält man eine Kurve mit scharfen Knick, vgl. Abbildung 5.22 a) und c) in Kapitel 5.3.7.

Man kann nun aus den Ergebnissen von Experiment und Simulation eine Interpretation der molekularen Prozesse während des Bindungsprozesses ableiten.

Auf Grund ihrer strukturellen Inhomogenität sind die Proteine durch thermische Fluktuationen unterschiedlich ausgelenkt, weiche Proteine sind länger als härtere. Nähert man das Bakterium der Oberfläche an, sind es die weichen Makromoleküle, die zuerst eine Bindung eingehen, was sich in einem kleinen Gradienten der Kraft-Distanz Kurve niederschlägt. Bei weiterem Annähern können auch härtere Moleküle binden und der Gradient der Kurve wird größer.

Aus diesen Resultaten lässt sich der Schluss ziehen, dass verschiedene Sorten von Makromolekülen mit verschiedenen Eigenschaften am Bindungsprozess beteiligt sind. Stellt man 20 experimentelle Kurven in einem Graph dar (Abbildung 5.5), so zeigen sich für ein biologisches System nur bemerkenswert geringe Fluktuationen zwischen den einzelnen Kurven. Dies lässt den Schluss zu, dass die Bindung an die Oberfläche durch eine sehr große Anzahl von Einzelbindungen verursacht wird.

Eine Anpassung des Modells an die experimentellen Ergebnisse wäre im Prinzip möglich, auf Grund der hohen Zahl freier Parameter wird man aber keinen eindeutigen Parametersatz erhalten. Abbildung 5.5 zeigt ein Beispiel einer simulierten Kurve die zumindest die charakteristischen Größen snap-in Distanz, snap-in Kraft, Adhäsionskraft und Abreißlänge qualitativ gut wiedergibt.

Für eine systematische Diskussion der Modellparameter sei wieder auf Kapitel 5.3.7 verwiesen.

5.3.4 Negativer Krafttrigger

Durch Einstellen eines negativen Krafttriggers können sowohl in Experiment als auch Simulation Partialkurven erzeugt werden. Der Trigger wird dafür auf einen Wert eingestellt, der zwischen Null und der snap-Kraft liegt. Das Zurückziehen des Cantilevers startet also bevor das Minimum des snap-in Prozesses erreicht ist. Wichtig zu betonen ist hier, dass die sonstigen Modellparameter dabei unverändert bleiben.

Abbildung 5.6 zeigt die erhaltenen Kurven für verschiedene Werte des Triggers. Auch wenn die numerischen Werte des Triggers für Experiment und Simulation nicht gleich sind, so zeigt sich auch hier eine sehr gute qualitative Übereinstimmung.

Für betragsmäßig sehr kleine Trigger von -100pN erhält man Rückzugskurven, die im Vergleich deutlich verschieden sind von den Standardkurven aus Abbildung 5.5. Die Adhäsionskraft ist deutlich reduziert. Die Abreißlängen sind allerdings ähnlich. Verringert man den Trigger und reduziert damit die Distanz des Bakteriums zur Oberfläche bevor das Zurückziehen startet kann die Standardkurve reproduziert werden. Bei -150pN im Experiment bzw. -130pN in den Simulationen erhält man bei 20 Kurven bereits zwei bis drei Standardkurven während der Rest weiterhin die reduzierte Adhäsionskraft zeigt. Reduziert man den Trigger weiter erhöht sich dabei der Anteil der Standardkurven in einem Ensemble von Messungen. Für Werte von -500pN im Experiment und -170pN in den Simulationen zeigen sich nur noch Standardkurven. Die gezeigten Partialkurven haben einige interessante Eigenschaften.

- Unabhängig vom eingestellten Krafttrigger ähneln die Kurven dem, was man für paralleles Ausdehnen von Makromolekülen erwartet [49].
- Die Adhäsionskraft steigt nicht stetig mit reduziertem Trigger. Entweder erhält man nur eine sehr deutlich reduzierte Adhäsionskraft oder man reproduziert die Kraft der Standardkurve. Zwischenwerte werden nicht beobachtet.
- Betrachtet man den Fall wenn eine Standardkurve beobachtet wird, so zeigt sich Folgendes. Wenn der Cantilever bereits Zurückgezogen wird steigt die gemessene

5.3 Ergebnisse aus Experiment und Simulation

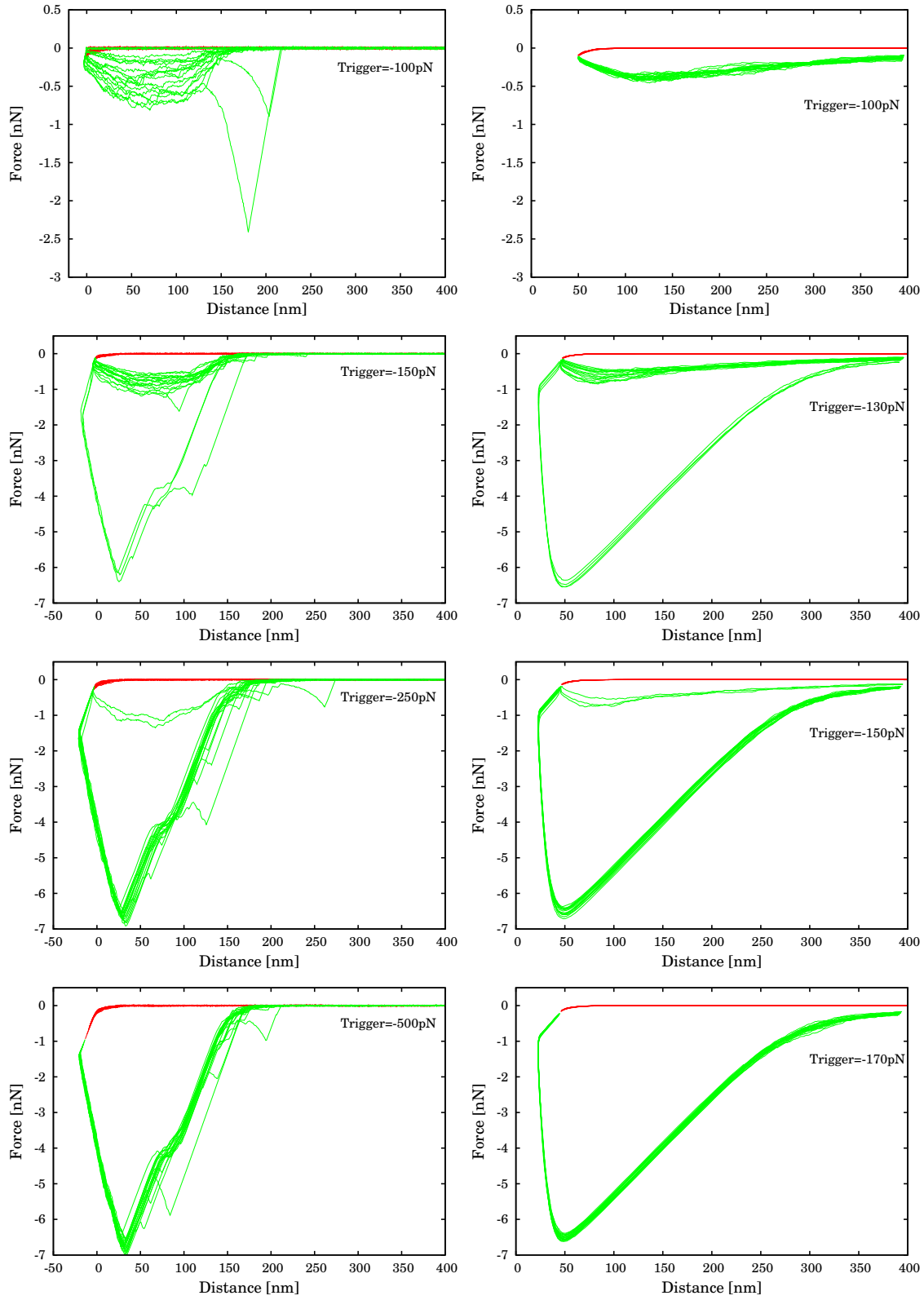


Abbildung 5.6: Kraft-Distanzkurven mit negativem Krafttrigger (Partialkurven). Die linke Spalte zeigt die experimentellen Kurven, die rechte Spalte die simulierten Kurven.

Kraft weiter an und gleichzeitig verringert sich der Abstand zwischen Oberfläche und Bakterium. Irgendwann wird ein minimaler Abstand erreicht und durch weiteres Zurückziehen des Cantilevers wird eine Standardkurve erhalten. Für Kurven mit reduzierter Adhäsionskraft findet sich kein solcher Effekt.

Diese Eigenschaften können mit Hilfe unseres Modells erklärt werden. Beträgt der Trigger nur -100pN können nur sehr wenige Makromoleküle an die Oberfläche binden. Diese sind offensichtlich zu schwach oder zu wenige um der rücktreibenden Kraft des Cantilevers zu widerstehen wenn das Zurückziehen startet. Daher vergrößert sich sofort der Abstand zwischen Oberfläche und Bakterium und das Binden von zusätzlichen Molekülen ist nicht möglich. Daraus folgt die sehr kleine Adhäsionskraft in diesem Fall. Verkleinert man den Trigger ändert sich die Situation. Durch den geringeren Abstand zur Oberfläche können mehr Makromoleküle binden und trotz des Zurückziehen des Cantilevers sind diese ausreichend um das Bakterium weiter Richtung Oberfläche zu ziehen. Dadurch wird es weiteren Molekülen ermöglicht an die Oberfläche zu binden und das Bakterium noch näher an die Oberfläche zu ziehen. Dies endet wenn die rücktreibende Kraft des Cantilevers zu groß wird und das Bakterium wieder von der Oberfläche weg zieht. In der Folge erhält man eine Standardrückzugskurve und die normale Adhäsionskraft.

Für gewisse Werte des Krafttriggers beobachtet man beide Formen der Rückzugskurve. Dies liegt daran, dass das Binden und Lösen der Moleküle ein stochastischer Prozess ist. Bei gleichem Krafttrigger kann es vorkommen, dass genug Moleküle binden um der rücktreibenden Kraft des Cantilevers zu widerstehen und ein anderes Mal binden nicht genügend Moleküle und man erhält Kurven mit reduzierter Adhäsionskraft. Für kleinere Trigger steigt die Wahrscheinlichkeit, dass genügend Moleküle binden und der Anteil der Standardkurven in einem Ensemble von Kurven steigt an (vgl. Abbildung 5.6) bis schließlich nur noch Standardkurven beobachtet werden.

5.3.5 Quervernetzung

Um weitere Beweise für eine Beteiligung der Makromoleküle beim snap-in Prozess zu bekommen und die Eigenschaften des Adhäsionsprozesses weiter zu erforschen, wurde im Experiment die Bakterienoberfläche mit Glutaraldehyd behandelt. Dieser Stoff reagiert mit einigen funktionalen Gruppen von Proteinen und verbindet sie auf diese Weise zu einem quervernetzten System. Wenn unsere Annahme stimmt und der snap-in Prozess durch Proteine in der Zellwand der Bakterien verursacht wird, dann sollte diese Behandlung den Bindungsprozess stark beeinflussen.

Um die Vernetzung der Proteine in den Simulationen abzubilden wurde das Modell dahingehend modifiziert, dass die Federn nicht mehr unabhängig voneinander ausgewählt und ausgelenkt werden, sondern das gesamte Ensemble von Federn bewegt sich nur noch als Ganzes.

Die Simulation läuft jetzt also mit folgenden Schritten ab.

1. Man bewegt den Cantilever mit einer Amplitude, die ein hundertstel der Schrittweite im Experiment entspricht.

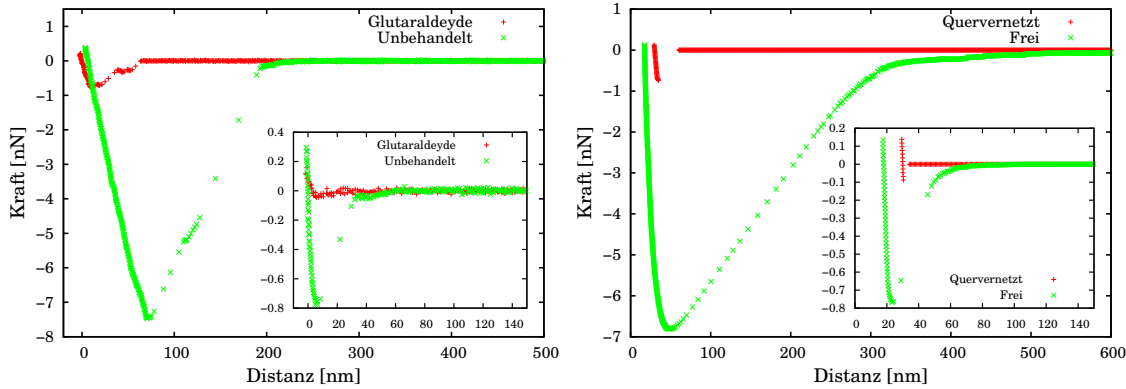


Abbildung 5.7: Vergleich der Messkurven für freies und quervernetztes System aus Experiment und Simulation. Links: Experiment. Rechts: Simulation. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven separat.

2. Man führt 200 MC-Sweeps für die Federn und das Bakterium aus, wobei ein Sweep gegeben ist durch
 - a) Update des Federensembles:
 - i. Es wird eine zufällige Verrückung r gewählt.
 - ii. Man bewegt das zweite Ende aller Federn um die Distanz r .
 - iii. Falls erlaubt, also $dz_i > 0$ und $l_i > 0$ für alle Federn, akzeptiert man den Move gemäß Metropolis-Algorithmus.
 - b) Aktualisierung der Position des Bakteriums, d.h. das Bakterium wird in seine Gleichgewichtsposition verschoben.
3. Man geht zurück zu eins, nach jedem hundertsten Schritt des Cantilevers wird die Konfiguration des Systems ausgelesen

Das Zurückziehen des Cantilevers startet auch hier wenn der eingestellte Krafttrigger erreicht ist.

Eine so erhaltene Kurve ist in Abbildung 5.7 zu sehen. Die Quervernetzung der Federn führt also zu einer deutlichen Veränderung des snap-in's. Sowohl die snap-in Distanz als auch die Kraft werden massiv reduziert. Auch auf die Rückzugskurve zeigen sich große Auswirkungen, die Adhäsionskraft und die Abreißlänge verkleinern sich extrem. Diese Ergebnisse können anhand unseres Modell einfach erklärt werden. Durch die Quervernetzung der Federn wird deren Fähigkeit Längenfluktuationen durchzuführen massiv eingeschränkt. Dies ist aber essentiell für die Entstehung des snap-in's, da weiche Federn, die durch thermische Anregung entsprechend länger sind, die Bindung initiieren. Die Vernetzung sorgt aber dafür das sich die Federn im Prinzip wie eine starre Oberfläche verhalten und damit die effektive Kontaktfläche zwischen Bakterium und Substrat signifikant verringert wird⁵. Dies hat zur Folge, dass viel weniger Federn

⁵Zur näheren Erläuterung des Begriffs der Kontaktfläche im hier gebrauchten Kontext siehe auch Abbildung 5.10.

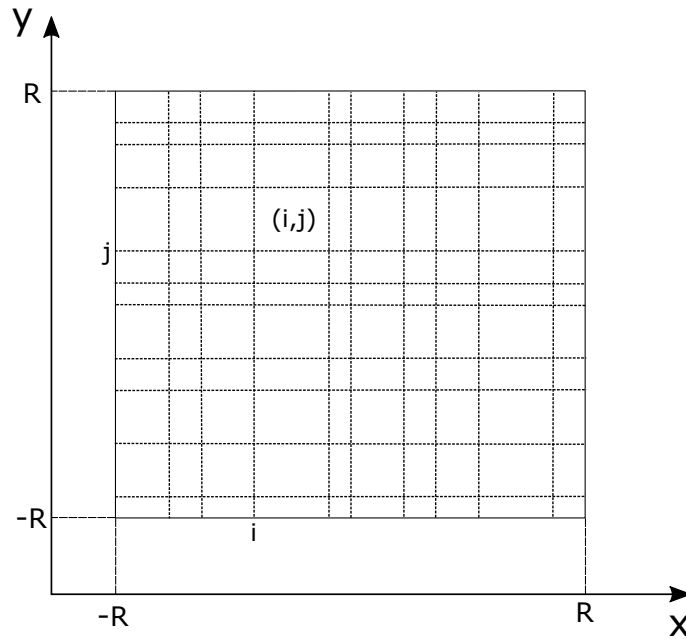


Abbildung 5.8: Schematische Darstellung des Diskretisierungsgitters zur Erzeugung der rauen Oberflächen. Die Fläche wird in Rechtecke aufgeteilt und jeder Zelle (i, j) eine Höhe $h(i, j)$ zugeordnet.

an der Oberfläche binden können was wiederum eine Reduzierung von snap-in Kraft, Adhäsionskraft und Abreißlänge verursacht.

Die experimentellen Kurven zeigen ebenfalls das eben beschriebene Verhalten nachdem die Bakterien mit Glutaraldehyd behandelt wurden (Abb.5.7).

Auch hier können die Simulationen direkt mit dem Experiment verglichen werden. Die Kurven stimmen in ihrem prinzipiellen Verlauf gut überein (Abbildung 5.7), allerdings gibt es auch Abweichungen: Die experimentelle Rückzugskurve ähnelt in ihrer Form der Kurve des freien Systems mit lediglich reduzierter Adhäsionskraft und Abreißlänge. Die simulierte Kurve reproduziert die Adhäsionskraft sehr gut, ihre Form unterscheidet sich aber von der Kurve des freien Systems und von der experimentellen Kurve.

Der snap-in im Experiment ist kaum zu erkennen und geht im Rauschen unter, während in der Simulation ein snap-in zu erkennen ist.

Eine mögliche Erklärung für die Unterschiede ist die Tatsache, dass im Modell die Federn komplett vernetzt sind, d.h. alle Federn sind miteinander verbunden. Eine solch vollständige Vernetzung kann im Experiment nicht garantiert werden. Für zukünftige Untersuchungen kann es daher sinnvoll sein, das Modell so anzupassen, dass eine partielle Vernetzung der Proteine simuliert wird.

5.3.6 Raue Oberflächen

Bisher wurde sowohl im Experiment als auch in den Simulationen eine glatte Oberfläche verwendet. Da reale Oberflächen bzw. Oberflächen außerhalb von Laborbedingungen

in der Regel aber nicht vollkommen glatt sind, wurde ebenfalls untersucht, wie die Adhäsion durch raue Oberflächen beeinflusst wird.

Um im Modell eine raue Oberfläche abzubilden wurde zuerst in der x - y -Ebene ein Schachbrettmuster erzeugt. Dazu werden zunächst sowohl auf der x - als auch auf der y -Achse im allgemeinsten Fall zufällige Punkte erzeugt, und zwar nach folgendem Verfahren:

$$\begin{aligned}x_0 &= -R \\x_i &= x_{i-1} + \Delta x_i \\ \text{Ist } x_i &> R \rightarrow x_i = R\end{aligned}$$

Analog für y . Dabei ist Δx_i eine im Intervall $[0, s]$ gleichverteilte Zufallszahl.

Der Parameter s dient hier zur Einstellung der Schrittweite bzw. der Größe der Zellen des Gitters.

Abbildung 5.8 zeigt das Resultat dieser Vorgehensweise. Das Quadrat mit den Eckpunkten $(-R, -R)$, $(-R, R)$, $(R, -R)$ und (R, R) wird in rechteckige Felder zufälliger Größe aufgeteilt.

Einen Spezialfall dieses Verfahrens erhält man, wenn man die Punkte zur Erzeugung des Gitters nicht zufällig auf den Achsen verteilt, sondern die Schrittweite Δx_i bzw. Δy_i zwischen den Punkten konstant wählt. In den Simulationen wurde in der Regel dieser Fall betrachtet. Durch Variation der Schrittweite können zusätzlich noch Diskretisierungseffekte untersucht werden.

Um nun eine Rauigkeit dieses Gitters zu erzeugen wird eine Höhenvariable $h(i, j)$ definiert, welche die Höhe der Oberfläche in z -Richtung im Feld (i, j) beschreibt.

Aus der Variablen h lässt sich ein Parameter R_{rms} für die Rauigkeit ableiten:

$$R_{rms} = \sqrt{\langle h^2 \rangle} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{(i,j)} h^2(i, j)}$$

Dabei ist N die Gesamtzahl der Zellen des Gitters. R_{rms} ist ein in Literatur und Forschung gebräuchlicher Parameter zur Beschreibung der Rauigkeit von Oberflächen. Ein Wert $R_{rms} = 0$ entspricht trivialerweise einer komplett glatten Oberfläche.

Mit Hilfe des im Folgenden beschriebenen stochastischen Prozesses wird für jedes Feld (i, j) ein konkreter Wert für $h(i, j)$ erzeugt.

1. Definiere eine gewünschte Oberflächenrauigkeit R_g und eine Schrittweite Δh .
2. Initialisiere $h(i, j) = 0 \quad \forall i, j$.
3. Führe N Updates (1 Sweep) der Variablen $h(i, j)$ aus
 - a) Wähle zufällig eine Zelle (i, j) aus
 - b) Setze $h(i, j) = h(i, j) \pm \Delta h$, \pm jeweils mit Wahrscheinlichkeit 0.5
4. Berechne R_{rms} : Ist $R_{rms} > R_g$ stoppe den Prozess, sonst gehe zurück zu 3.

Parameter	Wert
Δx_i	10 nm $\forall i$
Δy_i	10 nm $\forall i$
Δh	0.1 nm
R_g	3 nm

Tabelle 5.3: Parameter zur Erzeugung der rauen Oberflächen.

Dieser Prozess erzeugt eine Oberfläche mit vorgegebener Rauigkeit R_g . Die Variable $h(i, j)$ beschreibt hier letztendlich einen Random-Walk mit konstanter Schrittweite auf einem unbeschränkten Träger. Es lässt sich daher auch jede beliebige Rauigkeit generieren, denn bezeichnet man mit n die Anzahl der Sweeps in obigem Prozess, so gilt:

$$R_{rms} \propto \sqrt{n}$$

Aus der Random-Walk Eigenschaft folgt ebenfalls, dass der Mittelwert von $h(i, j)$ verschwindet:

$$\langle h \rangle = \frac{1}{N} \sum_{(i,j)} h(i, j) = 0$$

Insgesamt ist h eine normalverteilte Zufallszahl mit Dichte

$$P(h) = N(0, R_{rms}) \propto \exp\left(-\frac{h^2}{2R_{rms}^2}\right)$$

Die Parameter zur Erzeugung der folgenden Ergebnisse finden sich in Tabelle 5.3.

Bei realen Oberflächen führt eine Erhöhung der Rauigkeit zu einer äußerst komplexen Verformung des Oberflächenbindungspotentials. Darauf soll hier nicht näher eingegangen werden, da unser Fokus rein auf der veränderten Topographie der Oberfläche liegt. Daher nehmen wir an, dass sich das Bindungspotential analog zur Oberfläche verändert, d.h. für jede Zelle des erzeugten Gitters wird die Reichweite des Potentials ab der jeweiligen Höhe $h(i, j)$ gemessen.

Es sei an dieser Stelle nochmal daran erinnert, dass die Federn sich nur parallel zur z-Achse bewegen und keine laterale Bewegung ausführen. Zudem binden sie auch nur auf Flächenabschnitten, die parallel zur x - y -Ebene sind, d.h. die Federn können nicht an den Seitenflächen der einzelnen Plateaus des Diskretisierungsgitters binden.

Freies System

Zunächst wird der Einfluss der Rauigkeit auf das freie System untersucht. Es zeigt sich, dass eine Rauigkeit von 3 nm keinen Einfluss auf die Kraft-Distanz Kurven hat (Abb. 5.9).

Auch diese Ergebnisse passen zu unserem Bild des Adhäsionsprozesses. Da die Bindung

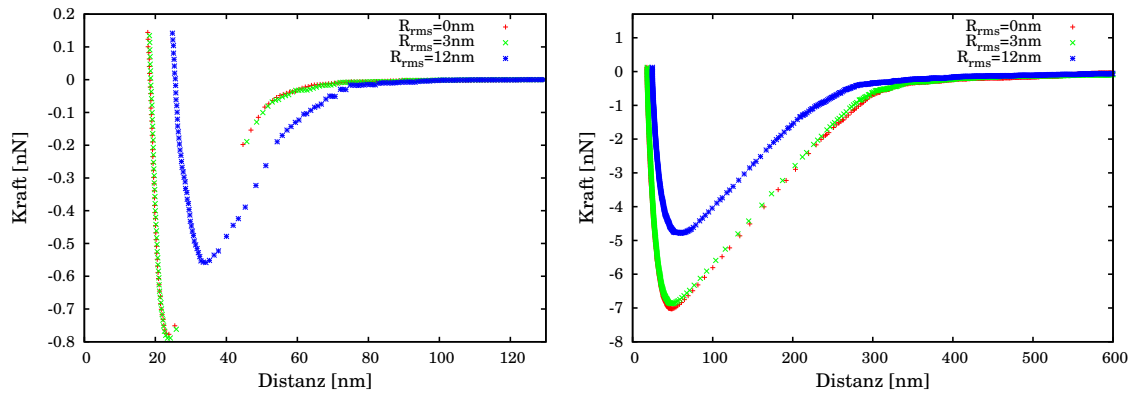


Abbildung 5.9: Vergleich von simulierten Kraft-Distanz Kurven für raue und glatte Oberflächen für das freie System. Links: Annäherungskurve. Rechts: Rückzugskurve.

von einzelnen Makromolekülen verursacht wird, ändert eine raue Oberfläche zunächst nichts an der Fähigkeit der Bakterien zur Bindung. Selbst bei einer unebenen Oberfläche mit Höhen und Tiefen können die kleinen Köpfe der Bindungsproteine weiterhin ungehindert an die Oberfläche anbinden. Durch ihre geringe Größe und ihre Flexibilität sind die Proteine in der Lage, die Unebenheiten der Oberfläche auszugleichen und damit die Kontaktfläche zwischen Bakterium und Substrat konstant zu halten. Mit Kontaktfläche ist in diesem Kontext die Teilfläche des Substrats gemeint, die von den Oberflächenproteinen wirklich für Bindungen erreicht werden kann, zur Illustration siehe Abbildung 5.10.

Wird die Rauigkeit der Oberfläche allerdings zu groß, zeigen sich auch beim freien System Auswirkungen auf die Messkurven. Durch die hohe Rauigkeit sind einzelne Höhen der Oberfläche weiter in z-Richtung ausgedehnt als bei geringeren Rauigkeiten und die Kontaktfläche wird kleiner. Dadurch setzt der snap-in bereits bei größeren Abständen ein, weil die Proteine bereits in größeren Abständen an die Oberfläche binden können⁶.

Die im Vergleich geringere snap-in Kraft (Abb. 5.9) ist ebenfalls eine Folge des eben beschriebenen Effektes. Die gebundenen Proteine sind primär an den „Bergen“ der Oberfläche gebunden und werden entsprechend früh komprimiert wodurch sie einen repulsiven Beitrag zur Gesamtkraft bilden. Auf Grund der hohen Rauigkeit der Oberfläche sind die „Täler“ noch so weit entfernt, dass dort kaum Federn binden können, die dann einen anziehenden Beitrag liefern würden. Entsprechend wird das Minimum des snap-in's und der Krafttrigger schneller erreicht.

Als weitere Folge können auch insgesamt weniger Federn an die Oberfläche binden, was zu einer verringerten Adhäsionskraft führt.

Der Effekt der Rauigkeit auf die Ergebnisse setzt nicht sofort ein, für geringe Rauigkeiten können die Federn auf Grund ihrer Elastizität die Rauigkeit ausgleichen und es

⁶Die Distanz des Bakteriums wird immer von $z = 0$, was gleichzeitig der mittleren Höhe $\langle h \rangle$ der Oberfläche entspricht, gemessen.

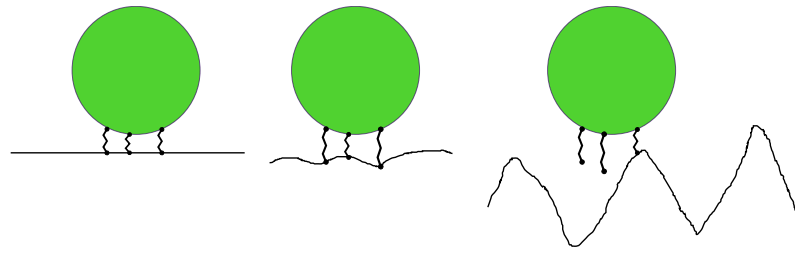


Abbildung 5.10: Abbildung zur Illustration des Begriffs der Kontaktfläche im Kontext dieser Arbeit: Auf der glatten Oberfläche links können in diesem Beispiel alle drei dargestellten Proteine binden, auf der sehr rauen Oberfläche rechts kann dagegen nur ein Protein binden. Für die beiden anderen Proteine ist die Oberfläche nicht in Reichweite. Die für eine Bindung zur Verfügung stehende Teilfläche des Substrats, also die Kontaktfläche, ist im Fall der rauen Oberfläche daher kleiner. Dieser Effekt kommt nur für große Rauigkeiten zu Stande. Ist die Rauigkeit im Bereich der Längenfuktuationen der Proteine, wie in der mittleren Abbildung, so können auch im Fall der rauen Oberfläche alle drei Proteine binden und die Kontaktfläche ist identisch zum Fall der glatten Oberfläche.

gibt keinen Unterschied zu glatten Oberflächen, da weiterhin die komplette Oberfläche zur Anbindung zur Verfügung steht.

Erhöht man die Rauigkeit jedoch immer weiter kommt der Punkt, an dem die Elastizität der Federn nicht mehr ausreicht. Die Federn können dann nur noch die „Berge“ der Oberfläche zum Anbinden erreichen, die „Täler“ sind zu weit entfernt, was zu einer Reduzierung der Kontaktfläche führt.

Quervernetztes System

Als nächstes betrachten wir die Adhäsion des quervernetzten Systems auf rauen Oberflächen. Im Gegensatz zum freien System hat eine raue Oberfläche bereits bei sehr viel geringeren Rauigkeiten einen deutlichen Einfluss auf die Adhäsion (Abb. 5.11). Schon bei einer Rauigkeit von $R_{rms} = 3\text{ nm}$ sieht man eine massive Reduktion von Adhäsions- und snap-in Kraft. Auch dies ergibt sich aus unserem Modell. Durch die Quervernetzung verhalten sich die Federn wie eine starre Oberfläche. Das hat bereits bei glatten Oberflächen zur Folge, dass die Kontaktfläche zwischen Bakterium und Substrat viel kleiner ist als beim freien System. Eine raue Oberfläche führt hier nun direkt zu einer weiteren Verringerung der Kontaktfläche, da durch die Quervernetzung die Federn schon bei geringen Rauigkeiten nicht mehr in der Lage sind die raue Oberfläche auszugleichen. Dadurch können auf rauen Flächen weitaus weniger Federn an das Substrat binden was die beobachtete Reduzierung der Kräfte zur Folge hat.

Durch eine weitere Erhöhung der Rauigkeit wird dieser Effekt noch verstärkt und bei ausreichend großen Werten für R_{rms} kommt es zu überhaupt keiner Bindung zwischen Bakterium und Oberfläche mehr. Bevor überhaupt ein Protein binden kann,

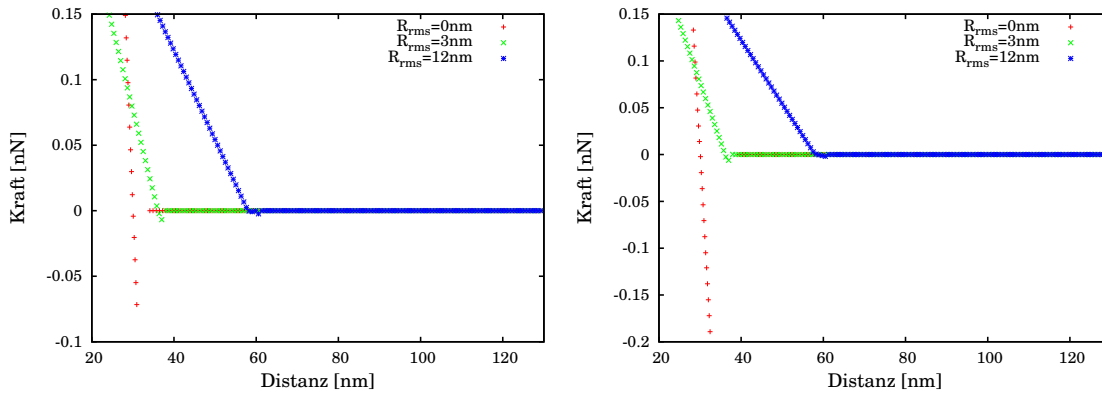


Abbildung 5.11: Vergleich von Kraft-Distanz Kurven für raue und glatte Oberflächen für quervernetztes System. Links: Annäherungskurve. Rechts: Rückzugskurve.

kommt es zum direkten mechanischen Kontakt zwischen Oberfläche und Membran des Bakteriums. Eine weitere Annäherung an die Oberfläche würde dann letztlich das Bakterium abtöten.

Diskretisierungseffekte und Sample-to-Sample Fluktuationen

Zur Erzeugung der Rauigkeit im Modell wird die Oberfläche mit einem diskreten Gitter überzogen. Die Größe der Zellen dieses Gitters ist damit ein weiterer Parameter der Einfluss auf die Messkurven haben könnte (Diskretisierungseffekt). Zusätzlich ist die Rauigkeit der Oberfläche, also die Höhe in jeder Zelle, eine Zufallsvariable und für jede Realisierung einer rauen Oberfläche für einen festen Wert von R_{rms} sollten sich unterschiedliche Kurven ergeben (Sample-to-Sample Fluktuationen).

Der Einfluss auf die Kurven entsteht dabei durch eine Veränderung der Kontaktfläche zwischen Substrat und Bakterium. Es bestehen bei den rauen Oberflächen im Prinzip zwei Möglichkeiten, diese Kontaktfläche zu verkleinern. Einmal, indem man bei gegebener Rauigkeit die Diskretisierung verfeinert und zum anderen, durch eine Vergrößerung der Rauigkeit. Zusätzlich können sich für verschiedene Realisierungen der Rauigkeit unterschiedliche Kontaktflächen ergeben.

Betrachten wir zunächst das freie System in Abbildung 5.12. Für kleine Rauigkeiten (hier: $R_{rms} = 3 \text{ nm}$) sieht man dort weder einen Einfluss der Diskretisierung der Oberfläche noch einen Effekt verschiedener Realisierungen der Rauigkeit. Die einzelnen Proteine in der Zellwand des Bakteriums können hier an jede mögliche Konfiguration der Oberfläche gleich gut binden⁷.

Geht man allerdings über zu größeren Rauigkeiten (hier: $R_{rms} = 48 \text{ nm}$), so zeigen sich sowohl Diskretisierungseffekte als auch sample-to-sample Fluktuationen. Je feiner man das Gitter macht, desto schlechter kann das Bakterium jetzt an die Oberfläche binden.

⁷Konfiguration bezeichnet hier die Kombination aus Diskretisierung der Fläche und Realisierung der Rauigkeit.

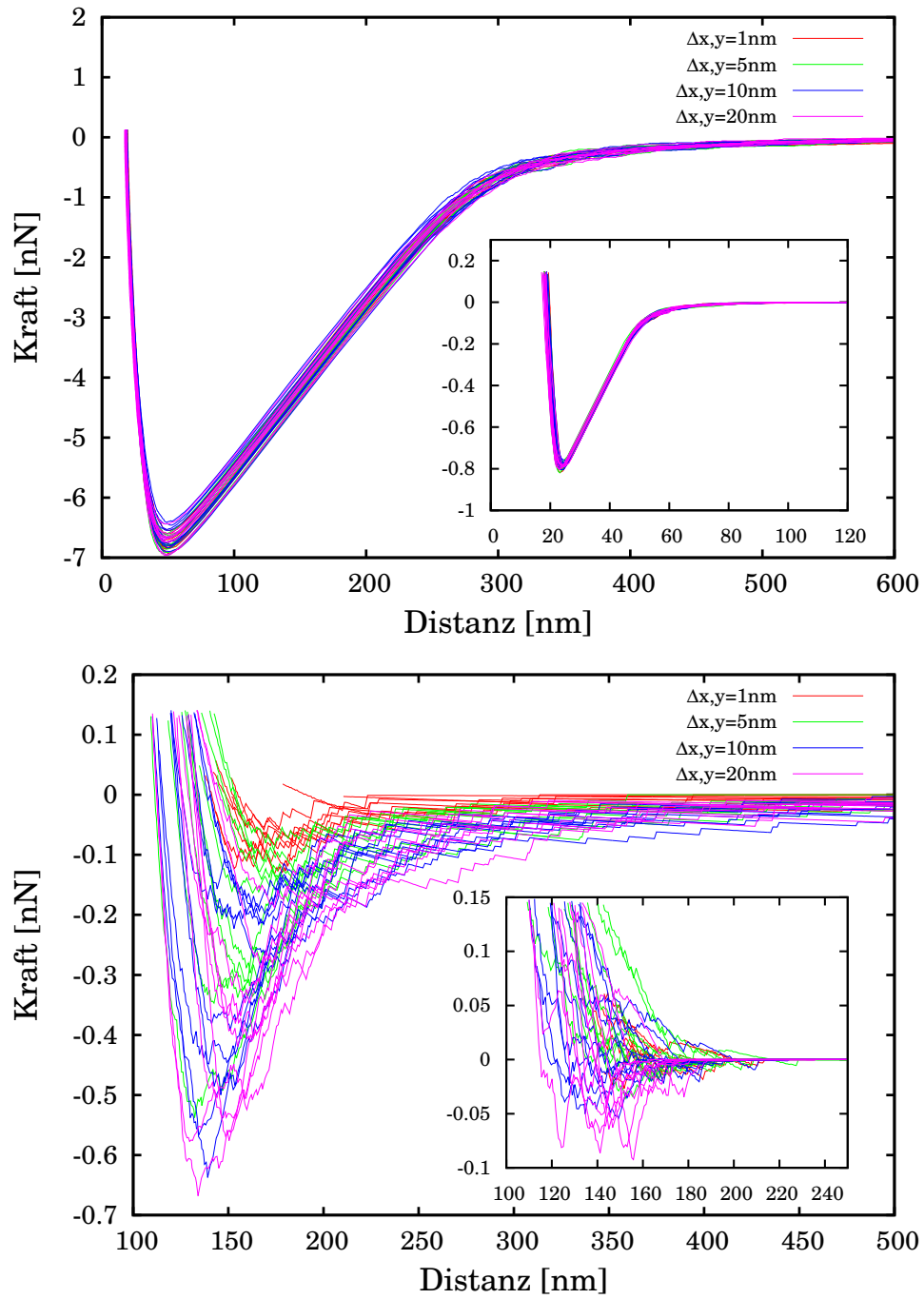


Abbildung 5.12: Oben: Simulierte Kraft-Distanz Kurven (freies System) für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 3 \text{ nm}$ und verschiedene Diskretisierungen der Oberfläche. Für jede der Zellengrößen sind 10 Kurven dargestellt. Unten: Gleiches Szenario wie oben, aber für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 48 \text{ nm}$. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven.

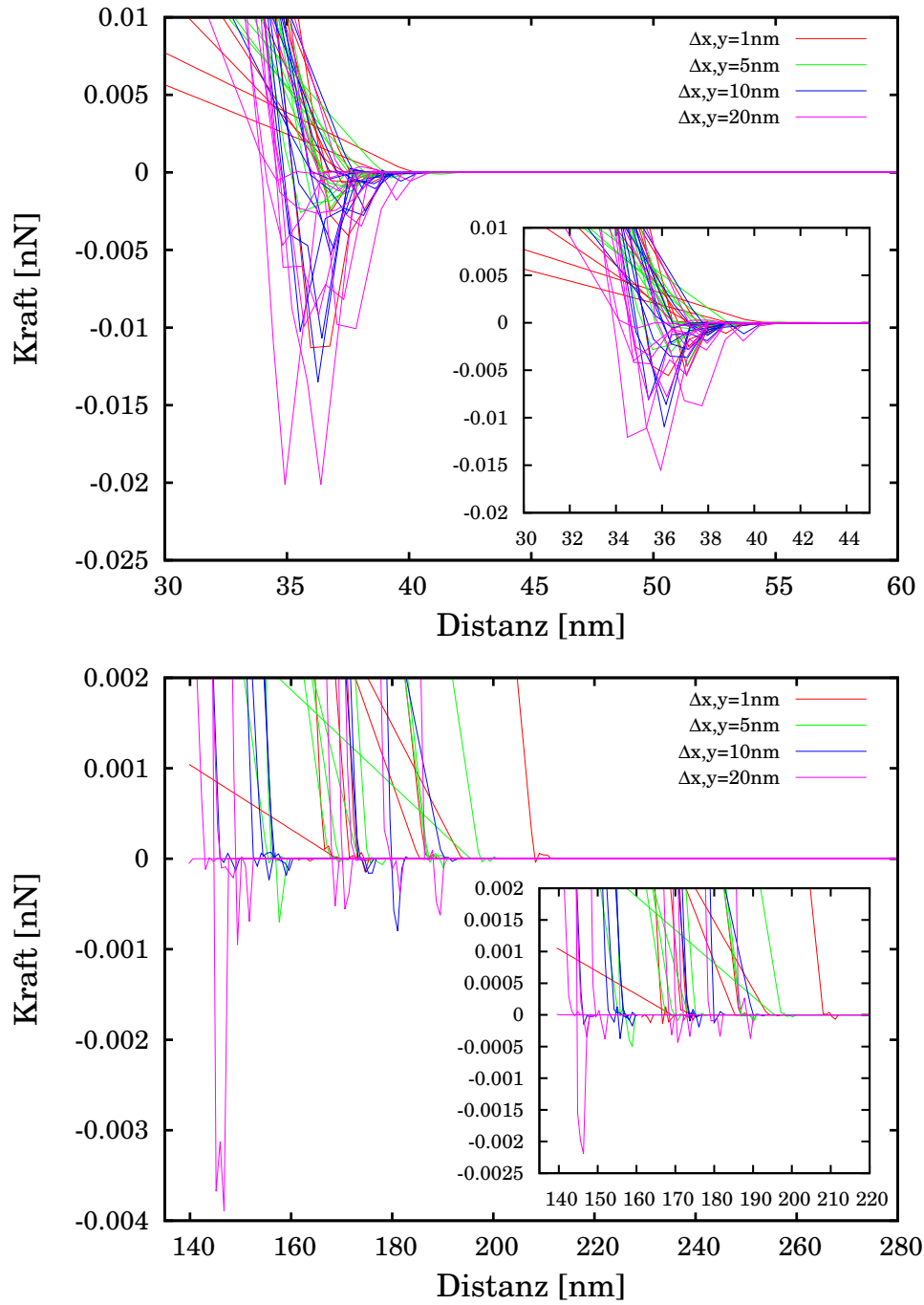


Abbildung 5.13: Oben: Simulierte Kraft-Distanz Kurven (quervernetztes System) für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 3\text{ nm}$ und verschiedene Diskretisierungen der Oberfläche. Für jede der Zellengrößen sind 10 Kurven dargestellt. Unten: Gleiches Szenario wie oben, aber für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 48\text{ nm}$. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven.

Für eine gegebene Diskretisierung ergeben sich zusätzlich große Fluktuationen zwischen verschiedenen Realisierungen der Rauigkeit (sample-to-sample Fluktuationen), siehe Abbildung 5.12.

Hat man ein sehr feines Gitter bei großen Rauigkeiten, so besteht die Oberfläche auf der Längenskala des Bakteriums praktisch aus scharfen Spitzen. Die Kontaktfläche zwischen Bakterium und Substrat ist damit sehr klein und es können nur sehr wenige oder auch überhaupt keine Proteine binden bevor es zum mechanischen Kontakt zwischen Substrat und Bakterium kommt.

Bei größeren Gittern erscheint die Oberfläche für das Bakterium dagegen als Fläche mit Plateaus verschiedener Höhe. Dadurch erhöht sich die effektive Kontaktfläche und es können mehr Proteine binden. Die sample-to-sample Fluktuationen entstehen dadurch, dass eine Oberfläche mit gegebener Rauigkeit R_{rms} auf verschiedene Art realisiert werden kann. Die Fläche kann aus mehreren Plateaus/Spikes ähnlicher Höhe bestehen oder es existiert im Extremfall ein Plateau/Spike, das deutlich höher ist als alle anderen. Im zweiten Fall ist die Kontaktfläche deutlich verringert. Dabei sind die sample-to-sample Fluktuationen für das feinste Gitter mit $\Delta x, y = 1$ nm deutlich geringer als für die übrigen Diskretisierungen. Hier führt jede mögliche Realisierung der Rauigkeit zu einer ähnlichen Kontaktfläche, die Oberflächenproteine können in jeder Realisierung des Substrats die Rauigkeit durch ihre Längenfluktuationen nicht mehr ausgleichen.

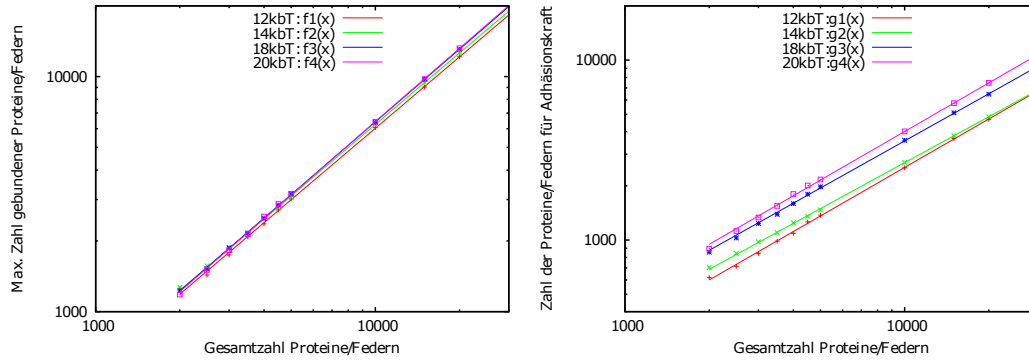
Für das quervernetzte System (Abbildung ??) ergeben sich bereits für Rauigkeiten von $R_{rms} = 3$ nm Diskretisierungseffekte und sample-to-sample Fluktuationen, analog zur Tatsache, dass eine Rauigkeit dieser Größe für das quervernetzte System bereits einen Einfluss auf die Kurven hat im Vergleich zur glatten Oberfläche. Durch die Quervernetzung ist die Kontaktfläche zwischen Bakterium und Substrat bereits stark verringert, in der Folge ist die Anbindung des Bakteriums an die Oberfläche weitaus sensibler auf weitere Veränderungen der Kontaktfläche durch Veränderung der Diskretisierung der Fläche oder durch verschiedene Realisierungen der Rauigkeit.

Bei großen Rauigkeiten von $R_{rms} = 48$ nm kommt es dann dazu, dass es in vielen Fällen zu gar keiner Bindung mehr zwischen einer Feder und der Oberfläche kommt, insbesondere bei sehr feinen Diskretisierungen. Es kommt dann zum mechanischen Kontakt bevor eine Feder binden kann.

5.3.7 Parameterabhängigkeit

Im Gegensatz zum Experiment ist es in den Simulationen möglich, die einzelnen Parameter des Modells genau zu kontrollieren. Durch die Variation dieser Parameter bietet sich daher die Möglichkeit, das Adhäsionsverhalten und insbesondere den Einfluss einzelner Parameter zu studieren.

Auf Grund des großen Raumes an freien Parametern wird sich allerdings auf die wesentlichen Parameter konzentriert: Anzahl der Proteine, Tiefe des Potentials und das Intervall aus dem die Federkonstanten gewählt werden. Ein weiterer Parameter des Modells ist die intrinsische Zeitskala der Fluktuationen der Proteine. In den Simulationen entspricht diese Zeitskala der Anzahl der Monte-Carlo-Sweeps des Federensembles pro



Potential	Funktionen f	Funktionen g
12 kbT	$f_1(x) = 0.552 \cdot x^{1.010}$	$g_1(x) = 0.668 \cdot x^{0.895}$
14 kbT	$f_2(x) = 0.570 \cdot x^{1.010}$	$g_2(x) = 1.091 \cdot x^{0.848}$
18 kbT	$f_3(x) = 0.494 \cdot x^{1.028}$	$g_3(x) = 1.179 \cdot x^{0.870}$
20 kbT	$f_4(x) = 0.467 \cdot x^{1.035}$	$g_4(x) = 1.033 \cdot x^{0.897}$

Abbildung 5.14: Links: Maximale Anzahl der gebundenen Federn N_{max} als Funktion der Gesamtzahl der Federn N . Rechts: Zahl der gebundenen Federn am Punkt der Adhäsionskraft N_a als Funktion der Gesamtzahl der Federn N .

AFM-Schritt. Da diese Zeitskala ebenso wenig bekannt ist wie die übrigen genannten Parameter, ist auch die Anzahl der MC-Sweeps letztlich frei wählbar und kann nur durch Anpassung an die experimentellen Ergebnisse bestimmt werden. Welchen Effekt eine Änderung der Zahl der Sweeps hat wird im Folgenden ebenfalls untersucht.

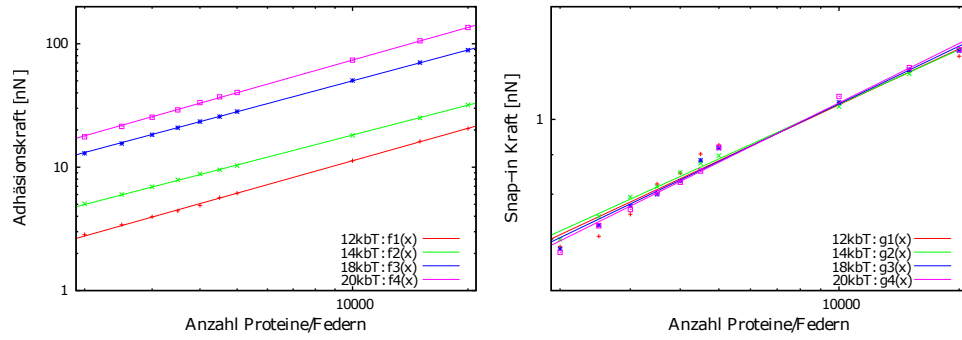
Betrachtet werden die vier charakteristischen Größen der Kraft-Distanzkurven: Snap-in Distanz, snap-in Kraft, Adhäsionskraft und Abreißlänge. Da das Binden des Bakteriums an die Oberfläche und das Ablösen von der Selbigen stochastische Prozesse sind, sind diese Größen Zufallsvariablen. Es werden daher immer die zugehörigen Ensemblemittelwerte betrachtet.

Anzahl Proteine/Federn

Bevor wir zur Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Anzahl der Federn kommen, noch eine Vorbemerkung zu den verschiedenen relevanten Federanzahlen. Zum einen gibt es die Gesamtzahl an Federn N , diese ist ein Parameter des Systems und wird zu Beginn einer Simulation eingestellt.

Die im Verlauf der Simulation gebundene Zahl von Federn $n(t)$ ist eine zeitabhängige, stochastische Variable⁸. Aus den Werten, die $n(t)$ während eines Simulationsdurchlaufs annimmt, gibt es zwei Werte, die für uns von besonderer Relevanz sind. Erstens der maximale Wert von $n(t)$, N_{max} genannt, und zweitens der Wert an dem Punkt an dem

⁸Die Zeit t wird hier in Monte-Carlo-Sweeps gemessen.



Potential	Funktionen f	Funktionen g
12 kbT	$f_1(x) = 0.004 \cdot x^{0.873}$	$g_1(x) = 0.114 \cdot x^{0.241}$
14 kbT	$f_2(x) = 0.011 \cdot x^{0.805}$	$g_2(x) = 0.120 \cdot x^{0.235}$
18 kbT	$f_3(x) = 0.024 \cdot x^{0.831}$	$g_3(x) = 0.107 \cdot x^{0.248}$
20 kbT	$f_4(x) = 0.023 \cdot x^{0.878}$	$g_4(x) = 0.100 \cdot x^{0.256}$

Abbildung 5.15: Mittlere Adhäsionskraft und mittlere snap-in Kraft als Funktion der Gesamtzahl der Federn N für verschiedene Potentialtiefen.

die Adhäsionskraft, also das Minimum der Rückzugskurve erreicht ist. Dieser Wert wird als N_a bezeichnet.

Zwischen diesen Werten gelten folgende Zusammenhänge, vgl. auch Abbildung 5.14:

$$N_{max} \propto N \quad (5.10)$$

$$N_a \propto N^c \quad \Rightarrow \quad N_a \propto N_{max}^c \quad \text{mit} \quad c < 1 \quad (5.11)$$

Wie zu erwarten steigen sowohl die mittlere snap-in Kraft F_s als auch die mittlere Adhäsionskraft F_a mit steigender Gesamtzahl der Federn N . Der funktionale Zusammenhang zwischen Kraft und Federzahl wird in beiden Fällen durch ein algebraisches Gesetz beschrieben (vgl. Abbildung 5.15):

$$F_s \propto N^{\alpha_s} \quad \text{bzw.} \quad F_a \propto N^{\alpha_a} \quad (5.12)$$

Für den snap-in ist die Kurve für den betrachteten Bereich unabhängig von der Potentialtiefe, vgl. auch Abbildung 5.18. Ein Blick auf den Exponenten zeigt, dass die snap-in Kraft nur schwach von der Teilchenzahl abhängig ist ($\alpha_s \approx 0.25$). Eine effektive Steigerung der snap-in Kraft durch Erhöhung der Federzahl ist also nur schwer möglich. Die Adhäsionskraft ist nicht unabhängig von der Tiefe der Potentials, allerdings scheint der Exponent α_a für alle Werte der Potentialtiefe gleich zu sein. Diese Frage konnte im Rahmen unserer Untersuchungen nicht eindeutig geklärt werden.

In jedem Fall ist die Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Federzahl deutlich stärker als bei der snap-in Kraft, der Exponent liegt im Bereich $\alpha_a \approx 0.85$ und damit erhält man einen fast linearen Zusammenhang. Dadurch kann die Adhäsionskraft durch eine Veränderung der Zahl der Federn weitaus effektiver beeinflusst werden als die

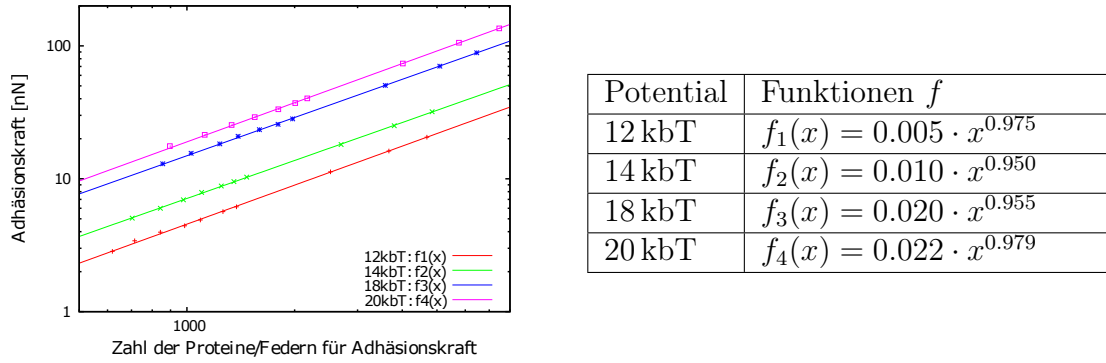


Abbildung 5.16: Adhäsionskraft als Funktion der Zahl der gebundenen Federn am Punkt der Adhäsionskraft (N_a).

	c	β_a	α_a	$c * \beta_a$
12 kbT	0.895	0.975	0.873	0.873
14 kbT	0.848	0.950	0.805	0.806
18 kbT	0.870	0.955	0.831	0.831
20 kbT	0.897	0.979	0.878	0.878

Tabelle 5.4: Zusammenfassung der Exponenten für die funktionalen Zusammenhänge zwischen N , N_{max} , N_a und F_a

snap-in Kraft.

Im Zusammenhang mit der Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Federzahl ist auch der funktionale Zusammenhang mit der maximalen Zahl gebundener Federn N_{max} interessant. Da N_{max} proportional zu N ist erhält man:

$$N_{max} \propto N \quad \Rightarrow \quad F_a \propto N_{max}^{\alpha_a}$$

Bei einer Verdopplung der Gesamtzahl der Federn verdoppelt sich also auch die maximale Zahl der gebundenen Federn. Die Adhäsionskraft verdoppelt sich allerdings nicht, sie steigt weniger stark an ($\alpha_a < 1$).

Die Adhäsionskraft steigt also nicht linear mit der maximalen Zahl der gebundenen Federn.

Der Grund für dieses Verhalten liegt in den Korrelationen zwischen den einzelnen Federn. Diese kommen dadurch zu Stande, dass gebundene Federn über das Bakterium miteinander wechselwirken. Die Kraft auf eine Feder hängt unter anderem davon ab, wie viele Feder gleichzeitig ebenfalls gebunden sind. Löst sich eine Feder von der Oberfläche ändert sich die Kraft auf alle andern Federn und damit die Wahrscheinlichkeit, sich auch von der Oberfläche zu lösen.

Dies hat zur Folge, dass es zu regelrechten Abreißkaskaden kommen kann, d.h. eine kleine Anzahl von Federn löst sich von der Oberfläche und durch die dadurch erhöhte Abreißwahrscheinlichkeit lösen sich in kurzer Zeit auch die restlichen Federn.

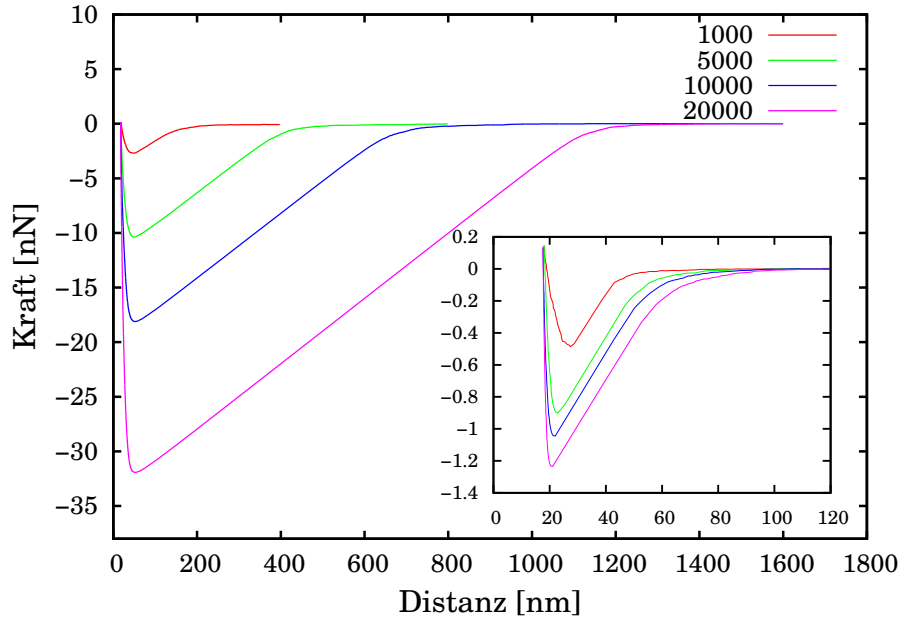


Abbildung 5.17: Rückzugskurven für verschiedene Gesamtzahlen von Federn. Der Inset zeigt die Annäherungskurve. Tiefe des Potentials für alle Kurven: 14 kbT

Man kann die Adhäsionskraft F_a schließlich auch als Funktion von N_a ansehen, es gilt dann

$$F_a = \sum_{i=1}^{N_a} f_i$$

Dabei läuft die Summe über alle gebundenen Federn und f_i ist die Kraft auf Feder i . Allgemein erhält man hier

$$F_a \propto N_a^{\beta_a} \quad (5.13)$$

mit $\beta_a \neq \alpha_a$ und $\beta_a \approx 1$.

Die Adhäsionskraft ist also proportional zur Zahl der dann gebundenen Federn, vgl. Abbildung 5.16.

Für die funktionale Abhängigkeit der Adhäsionskraft von den verschiedenen Federzahlen finden wir also zusammenfassend:

$$F_a \propto N^{\alpha_a} \quad (5.14)$$

Berücksichtigt man die Zusammenhänge zwischen N , N_{max} und N_a aus Gleichungen 5.10 und 5.11 erhält man

$$F_a \propto N_{max}^{\alpha_a} \quad (5.15)$$

und

$$F_a \propto N_a^{\alpha_a/c} \quad (5.16)$$

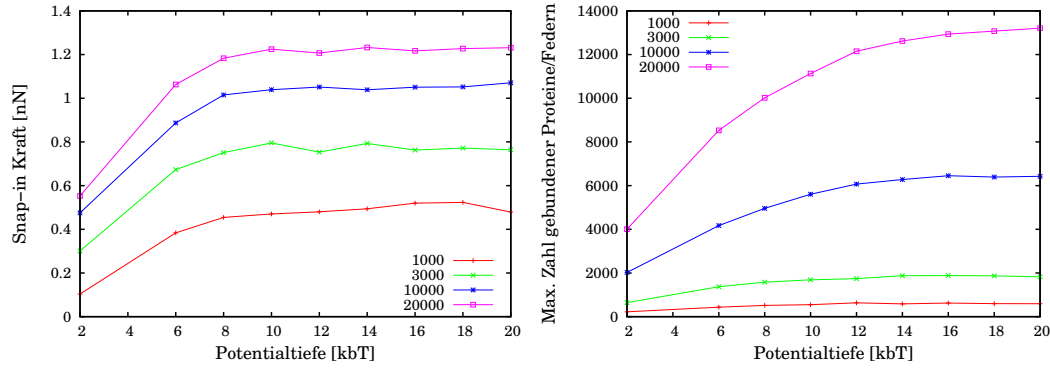


Abbildung 5.18: Links: Mittlere snap-in Kraft als Funktion der Potentialtiefe für verschiedene Gesamtzahlen von Federn. Rechts: Maximale Zahl gebundener Federn als Funktion der Potentialtiefe.

Ein Vergleich von Gleichung 5.16 und Gleichung 5.13 liefert dann einen Zusammenhang zwischen den Exponenten α_a , β_a und c :

$$\alpha_a = c * \beta_a \quad (5.17)$$

Tabelle 5.4 bestätigt Gleichung 5.17 für die numerischen Werte aus den Simulationen. Die Beispielkurven 5.17 zeigen den Einfluss der Federzahl auf snap-in Distanz und Abreißlänge. Beide steigen mit steigender Anzahl der Federn.

Durch eine größere Zahl von Federn steigt die Wahrscheinlichkeit, dass durch eine zufällige Längenfluktuation einer Feder schon bei einer größeren Distanz zur Oberfläche ein Kontakt zustande kommt. Dies resultiert in einer größeren snap-in Distanz.

Hat man mehr Federn zur Verfügung steigt ebenfalls die Zahl der gebundenen Federn und damit die Wahrscheinlichkeit, dass bei größeren Abständen noch gebundene Federn existieren, sodass der Kontakt zur Oberfläche über größere Distanzen erhalten bleibt.

Tiefe des Bindungspotentials

Es kann davon ausgegangen werden, dass neben der Zahl der Federn auch die Tiefe des Bindungspotentials U die Kraft-Distanzkurven beeinflusst.

Interessanterweise ist die snap-in Kraft weitgehend unabhängig von der Potentialtiefe. Lediglich bis zu einer Tiefe von etwa 8 kbT steigt die Kraft mit der Tiefe des Potentials, für größere Tiefen ist sie unabhängig davon (Abbildung 5.18).

Erklären lässt sich dieses Verhalten folgendermaßen. Die Bindewahrscheinlichkeit ist unabhängig von der Tiefe des Potentials, sobald eine Feder in Reichweite des Potentials ist, wird eine Bindung eingegangen. Die Zahl der gebundenen Federn im Verlauf der Kurve hängt also nicht von der Potentialtiefe ab, vgl. Abbildung 5.18. Da diese Zahl den Verlauf des snap-in und damit auch die snap-in Kraft bestimmt, ergibt sich eine Unabhängigkeit von der Potentialtiefe.

Lediglich für sehr flache Potentiale kommt der Effekt zum tragen, dass gebundene Federn den Potentialtopf auch leicht wieder verlassen können, je flacher, desto leichter

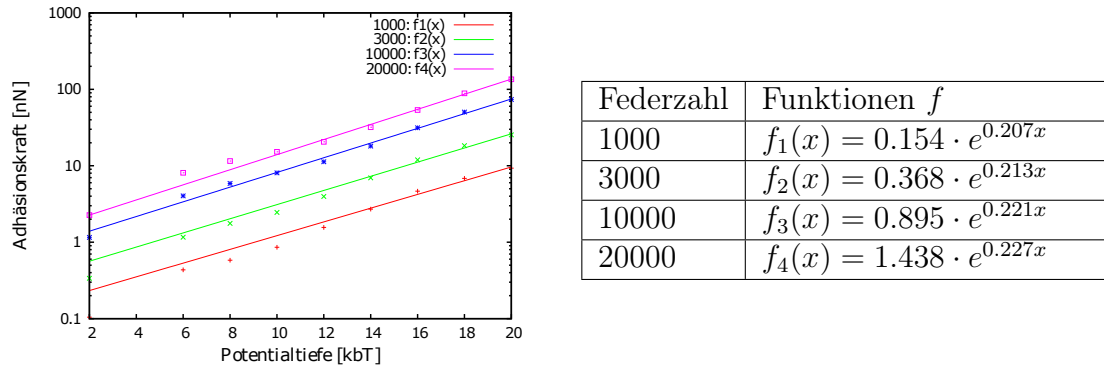


Abbildung 5.19: Mittlere Adhäsionskraft als Funktion der Potentialtiefe für verschiedene Gesamtzahlen von Federn.

kommen die Federn wieder heraus, wodurch hier eine Abhängigkeit von der Potentialtiefe folgt.

Auf die Adhäsionskraft hingegen hat die Potentialtiefe einen enormen Einfluss. Abbildung 5.19 zeigt, dass die Adhäsionskraft exponentiell mit der Tiefe anwächst.

$$F_a \propto e^{k*U} \quad (5.18)$$

Die Abhängigkeit der Adhäsionskraft ist hier viel stärker als von der Anzahl der Federn (algebraischer Zusammenhang).

Sind die Federn einmal im Potential gebunden, so hängt die Wahrscheinlichkeit p , das Potential wieder zu verlassen exponentiell von der Tiefe des Potentials ab. Das Potential stellt eine Energiebarriere dar, die erst überwunden werden muss.

$$p \propto e^{-U/k_B T}$$

Mit steigender Tiefe wird ein Verlassen des Potentials also exponentiell unwahrscheinlicher, was einer entsprechend stärkeren Bindung einer einzelnen Feder entspricht. Die größere Adhäsionskraft wird nur durch diese stärkeren Einzelbindungen verursacht, da die maximale Zahl der gebundenen Federn unabhängig von der Tiefe des Potentials ist (Abbildung 5.18).

Der Faktor k in Gleichung 5.18 ist unabhängig von der Teilchenzahl, vgl. Abbildung 5.19.

Abbildung 5.20 zeigt die Abhängigkeit von snap-in Distanz und Abreißlänge von der Potentialtiefe. Die komplette Annäherungskurve ist unabhängig von der Potentialtiefe, also auch die snap-in Distanz. Für die Entfernung, in der die ersten Federn binden, ist die Tiefe unerheblich.

Auf die Abreißlänge hat die Tiefe des Potentials allerdings einen erheblichen Einfluss, auch hier liegt der Grund darin, dass die Wahrscheinlichkeit für eine gebundene Feder den Potentialtopf zu verlassen exponentiell mit der Tiefe des Potentials abnimmt. Dadurch können einzelne Federn über viel größere Distanzen gebunden bleiben bzw. die Wahrscheinlichkeit, dass bei gegebener Distanz noch Federn gebunden sind, wächst und die mittlere Abreißlänge steigt an.

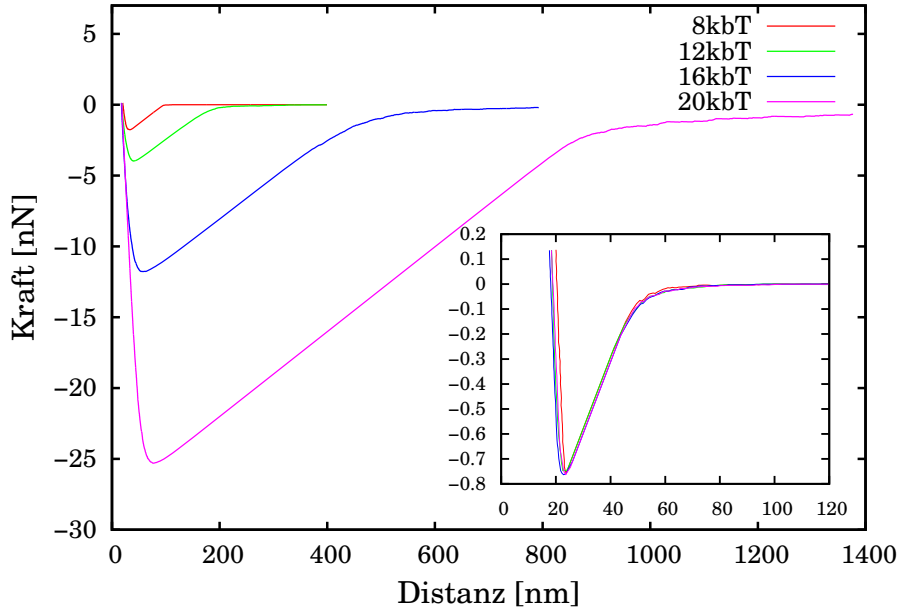


Abbildung 5.20: Rückzugskurven für verschiedene Tiefen des Bindungspotentials. Der Inset zeigt die Annäherungskurven. Gesamtzahl der Federn für alle Kurven: $N = 3000$

Kompensation

Wie wir gesehen haben, steigt die Adhäsionskraft sowohl mit der Zahl der Federn als auch mit der Tiefe des Potentials, d.h. es ist möglich, beide Parameter so zu variieren, dass sich die Wirkung bezüglich der Adhäsionskraft aufhebt. Also z.B. eine Verringerung der Teilchenzahl bei gleichzeitiger Erhöhung der Potentialtiefe.

Abbildung 5.21 zeigt das Ergebnis dieser Vorgehensweise. Die Adhäsionskraft bleibt durch die entsprechende Variation der Parameter annähernd konstant, die Abreißlänge verändert sich aber. Hier kommt zum tragen, dass sich Änderungen der Potentialtiefe viel stärker auswirken als Änderungen in der Anzahl der Federn. Obwohl die Adhäsionskraft ungefähr gleich ist, ist die Abreißlänge für ein tieferes Potential bei kleinerer Federzahl größer.

Beim snap-in ist es umgekehrt. Hier kommt zum tragen, dass die Tiefe des Potentials keinen Einfluss hat und man sieht nur den Effekt der unterschiedlichen Zahl der Federn, je mehr Federn, desto größer sind snap-in Kraft und snap-in Distanz.

Spreizung der Federkonstanten

Die Wahl der Federkonstanten aus einem Intervall $I = [k_{min}, k_{max}]$ von möglichen Werten ist notwendig um die experimentelle Form des snap-in's zu reproduzieren. Die beiden Grenzen des Intervalls sind dabei aber nicht festgelegt und damit Parameter, die im Modell variiert werden können.

Für jede Grenze gibt es drei Möglichkeiten: Verkleinern, Vergrößern oder den Wert

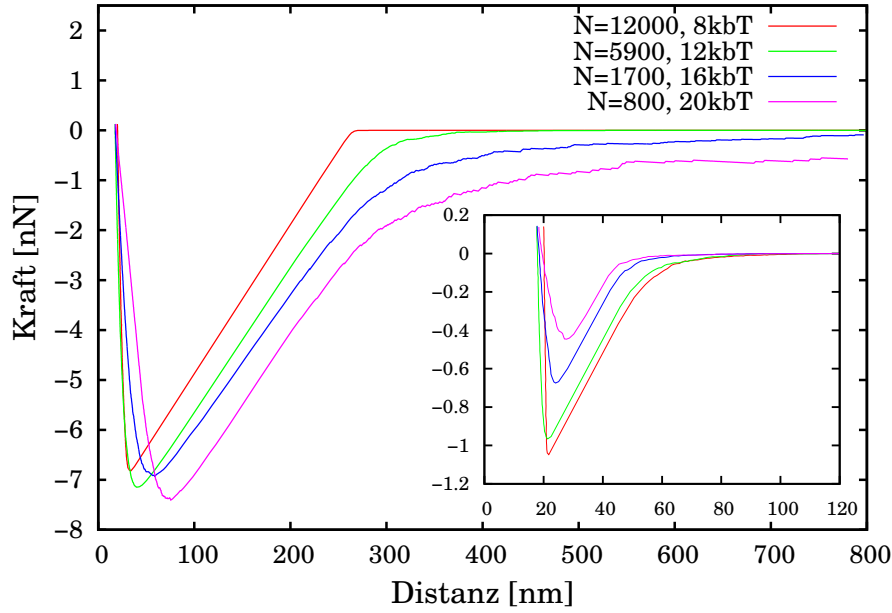


Abbildung 5.21: Variation von Teilchenzahl und Potentialtiefe, sodass die Adhäsionskraft konstant bleibt. Restliche Parameter: Standardparametersatz.

unverändert lassen. Lässt man den Fall, bei dem beide Grenzen unverändert gelassen werden außer acht, so gibt es insgesamt $2^3 - 1 = 8$ Möglichkeiten das Intervall qualitativ zu verändern. Dabei werden alle anderen Parameter konstant gehalten, insbesondere die Gesamtzahl der Federn. Eine Änderung des Intervalls der Federkonstantenwerte hat damit zur Folge, dass sowohl Federn mit anderen Konstante dazu kommen bzw. Federkonstanten wegfallen, als auch, dass sich die Zahl der Federn mit gegebener Konstante ändert, da die Federkonstanten gleichverteilt aus dem jeweiligen Intervall gezogen werden.

Zum Beispiel führt eine Vergrößerung von k_{max} bei konstantem k_{min} dazu, dass härtere Federn mit größeren Federkonstanten dazu kommen und es gleichzeitig in absoluten Zahlen weniger weiche Federn mit Federkonstanten im Bereich k_{min} gibt.

Anzumerken ist zudem noch, dass die Intervallgrenzen immer um einen Faktor x geändert wurden. Dadurch ist die relative Änderung von k_{min} und k_{max} gleich, aber da $k_{max} > k_{min}$ gilt ist die absolute Änderung an der oberen Grenze deutlich größer. Beide Tatsachen müssen bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

Im Folgenden werden Veränderungen des Intervalls I immer im Vergleich zum Standardintervall $I_s = [5 \cdot 10^{-6} \text{ nN/nm}, 10^{-3} \text{ nN/nm}]$ betrachtet. Die Auswirkungen solcher Variationen des Intervalls I auf die Kraft-Distanzkurven sind in Abbildung 5.22 zusammengefasst.

In a) wird k_{max} konstant gehalten und k_{min} variiert. Eine Änderung von k_{min} auf $k_{min} = 5 \cdot 10^{-7}$ zeigt kaum Auswirkungen auf die Kurve. Zum einen sind die Federn im Standardintervall an der unteren Grenze schon sehr weich, zum anderen ist die absolute Änderung von k_{min} im Vergleich zur Intervallgröße extrem klein, sodass auch

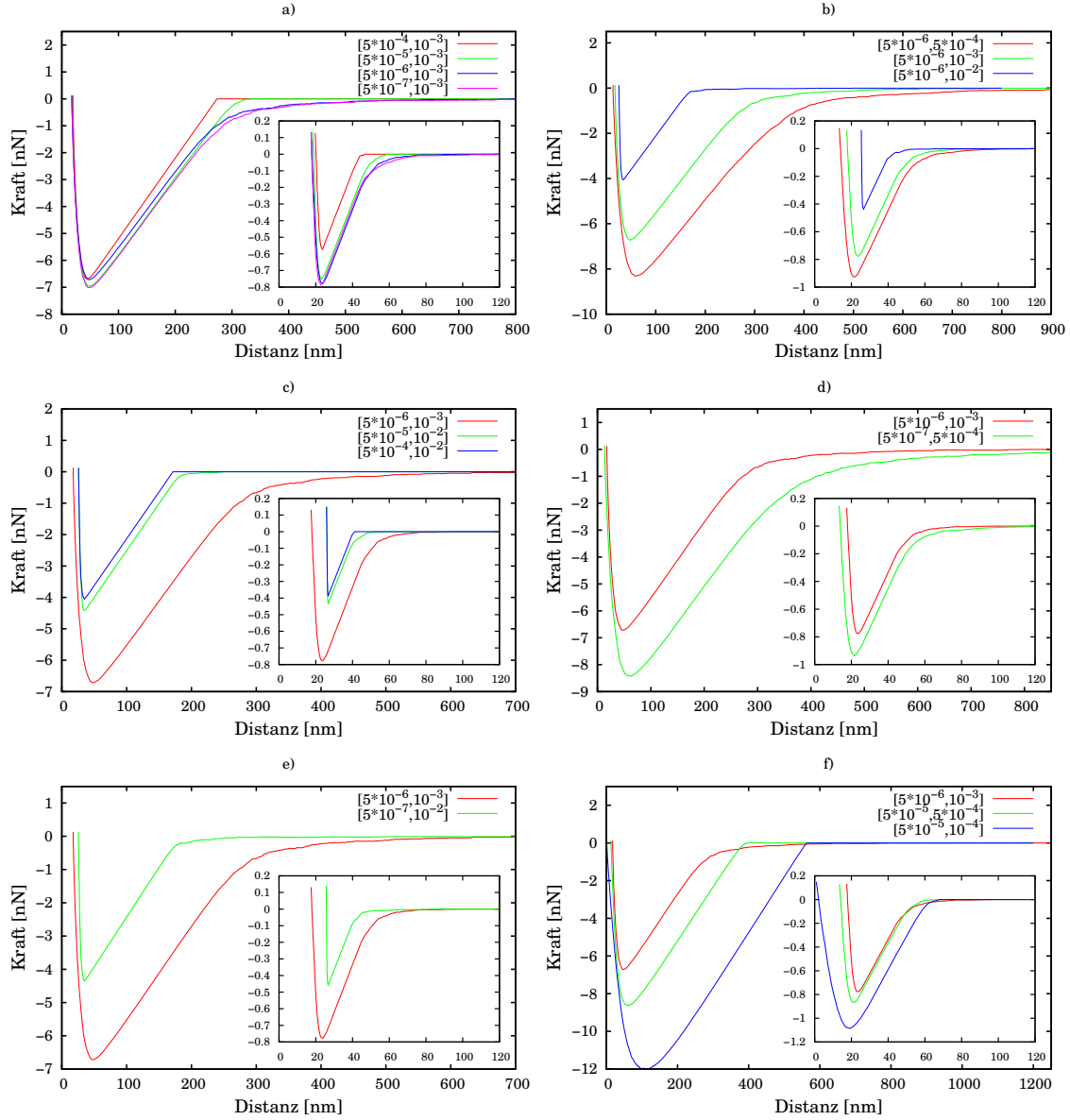


Abbildung 5.22: Auswirkungen auf die Kraft-Distanzkurven bei Variation des Intervalls der Federkonstanten. Referenzintervall aus Standardparametersatz: $I_s = [5 \cdot 10^{-6} \text{ nN/nm}, 10^{-3} \text{ nN/nm}]$

die Auswirkungen entsprechend klein sind. Eine Vergrößerung von k_{min} hat dagegen eine Veränderung der Kurve zur Folge. Die snap-in Distanz verkleinert sich, die Federn werden insgesamt starrer und die Längenausdehnung durch thermische Fluktuationen dadurch geringer. Die ersten Federn können also erst bei geringeren Abständen zur Oberfläche binden. Durch die kleinere snap-in Distanz und die kleineren Auslenkungen der Federn kommt man beim snap-in zudem früher in den Bereich, in dem die Federn, die bereits repulsiv wirken, dominieren. Dies verursacht eine kleinere snap-in Kraft. Zudem verändert sich der snap-in auch von seiner Form her, er setzt nicht nur später ein, sondern der Übergang wird durch die härteren Federn auch immer schärfer bis man anstatt des glatten Übergangs einen scharfen Knick erhält.

Im Verlauf der Rückzugskurve sind die weichsten Federn diejenigen, die am längsten an der Oberfläche haften bleiben. Durch eine kleinere Federkonstante ist die Kraft bei gleicher Ausdehnung geringer als bei einer Feder mit größerer Konstante, was zu einer kleineren Ablösewahrscheinlichkeit führt. Macht man nun die weichsten Federn härter (also k_{min} größer), so kommt es auf Grund dessen zu einer Verminderung der Abreißlänge.

In b) wird k_{max} variiert bei konstantem k_{min} . Eine Vergrößerung von $k_{max} = 10^{-3}$ auf $k_{max} = 10^{-2}$ verursacht eine deutliche Reduzierung aller vier charakteristischen Größen. Diese Veränderung von k_{max} ist in absoluten Werten betrachtet sehr groß, nach der Änderung befindet sich der Großteil des Intervalls im Bereich $10^{-3} - 10^{-2}$ und entsprechend werden auch die meisten Federkonstanten aus diesem Bereich gewählt. Damit werden die Federn insgesamt deutlich härter und es gibt kaum noch weiche Federn aus dem Bereich k_{min} . Wie bereits dargelegt führen härtere Federn bei gleichzeitig zahlenmäßig weniger weichen Federn zu einer geringeren snap-in Distanz und einer geringeren snap-in Kraft und haben zudem zur Folge, dass insgesamt weniger Federn binden können. Auch bei der Rückzugskurve dominieren die harten Federn das Verhalten, durch die schneller steigende Kraft auf die einzelne Feder reißen diese schneller von der Oberfläche ab und in Verbindung mit der geringeren Anzahl gebundener Federn kommt es zu einer Verminderung von Adhäsionskraft und Abreißlänge.

Verschiebt man umgekehrt die obere Intervallgrenze zu kleineren Werten sieht man einen gegenteiligen Effekt. Die Federn werden im Mittel weicher, insbesondere erhöht sich die Zahl sehr weicher Federn im Bereich k_{min} . Dadurch vergrößert sich die snap-in Distanz und da es damit länger dauert bis die repulsiv wirkenden Federn dominieren erhöht sich auch die snap-in Kraft. Gleichzeitig binden auch mehr Federn an die Oberfläche. Durch mehr gebundene und vor allem weichere Federn vergrößern sich Adhäsionskraft und Abreißlänge.

Teil c) in Abbildung 5.22 zeigt den Effekt einer Verschiebung von beiden Intervallgrenzen zu größeren Werten. Das Ergebnis ist das gleiche wie in b) bei Vergrößerung von k_{max} alleine und führt zu einer Verminderung aller vier charakteristischer Größen. Die zusätzliche Verschiebung von k_{min} sorgt dafür, dass der Anfang des snap-in immer schärfer wird und erst bei geringeren Distanzen zur Oberfläche beginnt.

Im Gegenteil zu c) wurden in d) k_{min} und k_{max} verkleinert. Auch hier kann man den Vergleich zu b) ziehen, wo nur die obere Grenze verkleinert wurde. Man erhält auch hier den gleichen Effekt einer Vergrößerung der charakteristischen Größen der Kurve.

Wie in a) bereits gezeigt hat eine Verkleinerung von k_{min} um einer Zehnerpotenz keine Auswirkungen.

Eine Vergrößerung von k_{max} bei Verkleinerung von k_{min} resultiert ebenfalls nur in dem Effekt der Veränderten oberen Grenze, siehe Teil e) in Abbildung 5.22, wie er auch schon in b) und c) zu beobachten ist. Die Veränderung von k_{min} hat hier ebenfalls keine Auswirkungen.

Als letzte Möglichkeit der Variation von I wird in f) k_{max} verkleinert und k_{min} erhöht. Dadurch werden also die weichsten Federn im Vergleich härter und die härtesten Federn weicher. Auch hier muss beachtet werden, dass die absolute Änderung an der oberen Grenze deutlich größer ist als an der unteren. Der Einfluss der Änderung von k_{max} auf die Kurve ist dementsprechend groß. Durch das Wegfallen der harten Federn vergrößern sich Adhäsionskraft, snap-in Kraft und Abreißlänge, vergleiche b) und d), und je weicher man die härtesten Federn macht, desto größer ist der Effekt.

Ein genauerer Blick soll für diesen Fall noch auf die snap-in Distanz gelegt werden. Durch Veränderung des Standardintervalls I_s auf $I = [5 * 10^{-5} \text{ nN/nm}, 5 * 10^{-4} \text{ nN/nm}]$ setzt der snap-in zunächst später, d.h. bei geringeren Distanzen zur Oberfläche, ein. Da die weichsten Federn, die für den Erstkontakt zur Oberfläche verantwortlich sind, härter werden, kommt es erst später zum Kontakt.

Verschiebt man nun nur die obere Grenze des Intervall weiter zu kleineren Werten $k_{max} = 10^{-4} \text{ nN/nm}$, so vergrößert sich die snap-in Distanz wieder, obwohl sich die Federkonstanten der weichsten Federn nicht geändert haben. Hier kommt ein anderer Effekt zum Tragen. Durch die Verkleinerung von k_{max} und damit der Verkleinerung des Intervalls insgesamt, gibt es in absoluten Zahlen mehr weiche Federn mit Konstanten im Bereich k_{min} . Jede dieser Federn hat durch thermische Auslenkungen eine von ihrer Ruhelänge verschiedene Länge. Dabei sind größere Längenfluktuationen unwahrscheinlicher als kleinere und die Wahrscheinlichkeit für eine Fluktuation ist für jede Feder die Gleiche. Hat man nun aber mehr solcher Federn, erhöht sich die Gesamtwahrscheinlichkeit, dass schon bei größeren Distanzen zur Oberfläche eine zufällige Auslenkung einer weichen Feder zum Kontakt führt.

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass die effektivste Möglichkeit, sowohl snap-in als auch Adhäsionskraft zu vergrößern, darin besteht, die obere Grenze k_{max} zu verkleinern, d.h. indem man die härtesten Federn weicher macht. Dadurch kommt man beim snap-in später in den Bereich, in dem der repulsive Anteil der Federn dominiert wodurch sich die snap-in Kraft erhöht und auch mehr Federn an die Oberfläche binden. Durch mehr Federn und da weiche Federn länger bzw. stärker an die Oberfläche binden vergrößern sich in der Folge die Adhäsionskraft und die Abreißlänge.

Allerdings kann k_{max} nicht beliebig verkleinert werden, eine zu große Änderung führt dazu, dass der aus den Experimenten übernommene Krafttrigger nicht mehr erreicht wird und das Bakterium in die Oberfläche gedrückt werden würde. Den gegenteiligen Effekt kann man natürlich durch eine Vergrößerung von k_{max} erzielen.

Gegenüber reinen Veränderungen der unteren Grenze k_{min} sind die Ergebnisse zunächst sehr robust. Eine Verkleinerung hat kaum wahrnehmbare Auswirkungen. Vergrößert man dagegen k_{min} hat dies zunächst nur einen Effekt auf snap-in Distanz und Abreißlänge, beide werden kleiner, da härtere Federn später binden und früher wieder von

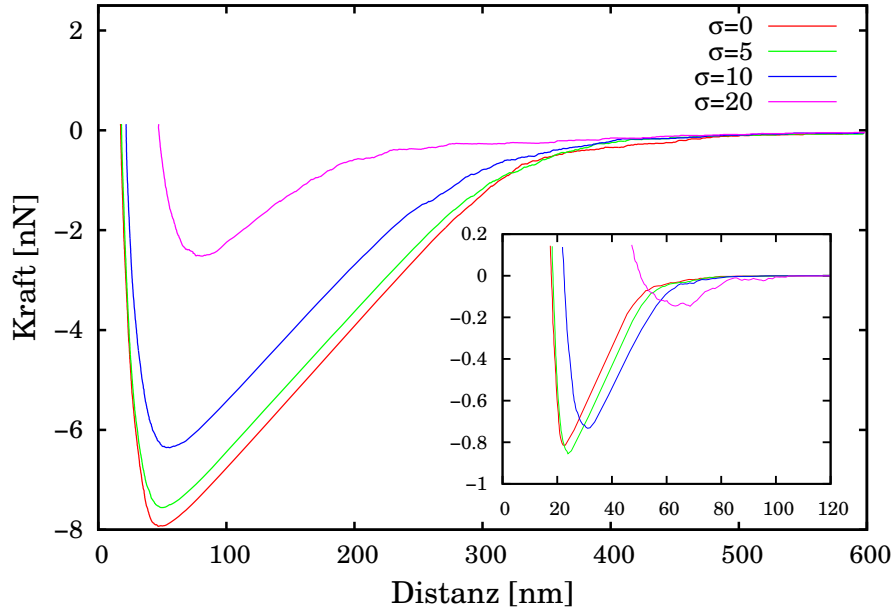


Abbildung 5.23: Die Ruhelänge l_0 der Federn wurde hier aus einer Normalverteilung gezogen mit den Parametern $\langle l_0 \rangle = 30$ nm und variabler, im Graph angegebener Varianz σ^2 . Ansonsten wurde der Standardparametersatz verwendet. Der Inset zeigt die Annäherungskurve.

der Oberfläche abreißen. Erhöht man k_{min} weiter hat dies auch Veränderungen der prinzipiellen Form der Kurve zur Folge. Der experimentell beobachtete glatte Übergang zu Beginn des snap-in verschwindet und wird zu einem scharfen Knick. Als weitere Folge der härteren Federn verkleinert sich zudem die snap-in Kraft.

Kurz gesagt, durch Veränderung der oberen Grenze lassen sich sehr leicht alle vier charakteristischen Größen der Kurve verändern, während man durch Vergrößerung der unteren Grenze lediglich snap-in Distanz und Abreißlänge verkleinern kann und auch nur in sehr viel geringerem Maße.

Normalverteiltes l_0

Bisher wurde nur der Fall betrachtet, bei dem alle Federn die gleiche Ruhelänge $l_0 = 30$ nm haben. Auf Grund der Diversität der Proteine in der Bakterienhülle entspricht dies nicht den biologischen Gegebenheiten. Daher wurde untersucht, welchen Einfluss es hat, wenn die Ruhelänge l_0 aus einer Normalverteilung mit Mittelwert $\langle l_0 \rangle = 30$ nm und verschiedenen Varianzen σ^2 gewählt wird.

$$p(l_0) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(l_0 - \langle l_0 \rangle)^2}{2\sigma^2}\right)$$

Schaut man sich zunächst den snap-in an (Abbildung 5.23), so sieht man, dass mit steigender Varianz der Verteilung die snap-in Distanz größer wird. Durch das Auswählen

der Ruhelängen aus der Normalverteilung sind im Federensemble im Vergleich zum Fall mit konstanter Ruhelänge auch längere Federn vorhanden die entsprechend bei größeren Distanzen an die Oberfläche binden können. Insgesamt wirken die Kurven so, als ob die Federn im Mittel länger wären. Für das gesamte Federensemble ist dies zwar nicht der Fall, da die Verteilung symmetrisch um l_0 ist, allerdings wird der snap-in von den Federn mit $l_i > l_0$ bestimmt. Diese binden zuerst an die Oberfläche und bevor auch sehr kurze Federn mit $l_i \ll l_0$ binden können ist der Krafttrigger bereits erreicht und die Annäherung wurde gestoppt. Je größer die Varianz ist, desto weniger Federn binden insgesamt an die Oberfläche, da durch das frühere Anbinden an die Oberfläche und die Kompression der langen Federn das Minimum des snap-in und der Krafttrigger bei größeren Distanzen erreicht werden und sehr kurze Federn daher keine Möglichkeit haben an die Oberfläche zu binden.

Macht man die Verteilung sehr breit ($\sigma = 20 \text{ nm}$) so dominieren sehr lange Federn den snap-in und die Kurve verändert sich auch qualitativ. Es binden jetzt nur noch so wenige lange Federn, sodass die Kurve weniger glatt wird und man ein deutliches Rauschen sehen kann.

Bei den Rückzugskurven würde man eigentlich erwarten, dass mit steigender Varianz der Verteilung und damit steigender Länge der gebundenen Federn auch die Abreißlänge steigt. In diesem Fall geht aber auch die Zahl der gebundenen Federn zurück und dieser Effekt dominiert die Kurve, wodurch sich die Abreißlänge verringert.

Einfluss der Zeitskala

Die bisher untersuchten Parameter bezogen sich auf mechanische Eigenschaften des Modells. Hier geht es jetzt um die Frage, welchen Einfluss die intrinsische Zeitskala der Fluktuationen der Federlänge hat. Die thermischen Längenfluktuationen der Polymere in der Bakterienhülle finden mit einer bestimmten Geschwindigkeit bzw. auf einer bestimmten Zeitskala statt. Wie die restlichen Parameter des Modells ist diese aber nicht bekannt.

Wie bereits erwähnt, wird diese Zeitskala im Modell durch die Anzahl der MC-Sweeps pro AFM-Schritt parametrisiert oder einfacher ausgedrückt, wie viele MC-Sweeps müssen pro AFM-Schritt ausgeführt werden, damit die Zeitskala im Modell der realen Zeitskala entspricht.

Diese Frage kann im Rahmen des Modells leider nicht beantwortet werden. Eine Bestimmung der korrekten Zeitskala durch Anpassung der simulierten Kurven an die experimentellen würde zu keinem eindeutigen Ergebnis führen. Auf Grund der großen Zahl freier Parameter, deren Wirkungen bei Variation sich zum Teil gegenseitig aufheben, wird man mehr als einen Parametersatz finden, der die experimentellen Kurven gut reproduziert.

Was im Modell aber untersucht werden kann, ist der Effekt auf die Kraft-Abstandskurven, der sich bei Variation der Anzahl der MC-Sweeps ergibt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 5.24 dargestellt.

Betrachten wir zunächst den snap-in. Je mehr Sweeps pro AFM-Schritt ausgeführt werden desto größer werden snap-in Kraft und snap-in Distanz. Aus der Sicht des

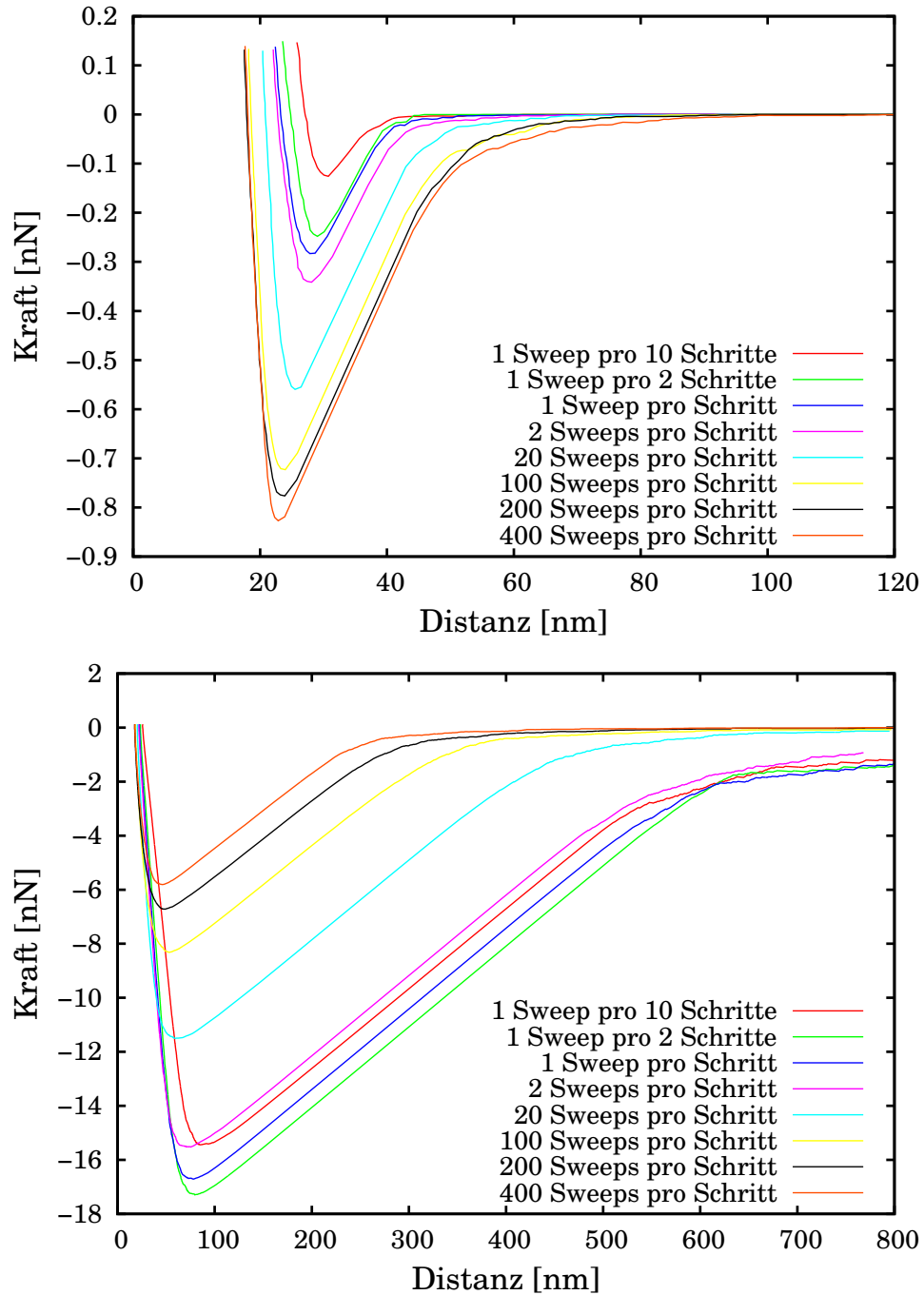


Abbildung 5.24: Einfluss der Variation der Zahl der MC-Sweeps pro AFM-Schritt auf die Kraft-Abstandskurven im Modell. Oben: Annäherungskurve. Unten: Rückzugskurve. Es wurde ansonsten der Standardparametersatz verwendet. In der Legende ist immer die Zahl der MC-Sweeps pro AFM-Schritt in der Simulation angegeben. Will man weniger als einen Sweep pro Schritt machen, muss man die AFM-Schrittweite erhöhen. Dies wurde in den ersten beiden Kurven getan, für die grüne Kurve wurde die AFM-Schrittweite verdoppelt und für die rote Kurve verzehnfacht. Dann wurde für jeden dieser neuen Schritte jeweils ein MC-Sweep ausgeführt.

Bakteriums bzw. der Federn bedeuten mehr MC-Sweeps schnellere Fluktuationen, d.h. für eine gegebene Distanz des Cantilevers zur Oberfläche werden für jede Feder mehr Updates ihrer Länge durchgeführt. Dadurch ergibt sich eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass schon bei größeren Distanzen eine Längenfluktuation auftritt, die ausreichend groß ist, damit eine Feder an die Oberfläche binden kann.

Durch die höhere Zahl an Updates erhöht sich auch die Zahl der Federn die an die Oberfläche binden. Dadurch ist die Gleichgewichtsposition des Bakteriums für eine gegebene Position des Cantilevers näher an der Oberfläche, was gleichbedeutend mit einer höheren Kraft auf den Cantilever ist. Als Folge davon ist die Kraft auch am Minimum der Kurve größer und die snap-in Kraft erhöht sich.

Bei den Rückzugskurven werden ausgehend von der Simulation mit den meisten MC-Sweeps pro AFM-Schritt zunächst sowohl Adhäsionskraft als auch Abreißlänge größer wenn man die Zahl der MC-Sweeps verringert. Eine gebundene Feder hat bei jedem Update ihrer Länge die Chance den Potentialtopf zu verlassen und sich damit von der Oberfläche zu lösen. Macht man nun weniger Updates pro AFM-Schritt, so brauchen die Federn länger um sich zu lösen und bleiben über größere Distanzen gebunden. Damit vergrößern sich Adhäsionskraft und Abreißlänge.

Reduziert man die Zahl der MC-Sweeps aber zu stark, wird dieser Effekt allerdings durch einen zweiten Effekt überkompensiert und Adhäsionskraft und Abreißlänge reduzieren sich, siehe rote Kurve in Abbildung 5.24. Durch weniger Updates reduziert sich die Zahl gebundener Federn, was zu einer Reduzierung der Adhäsionskraft führen sollte. Das dem zunächst nicht so ist liegt am eben beschriebene Effekt. An einem bestimmten Punkt binden aber nur noch so wenige Federn, dass dies durch die geringere Zahl an Updates nicht mehr kompensiert werden kann und der Effekt der verminderten Zahl gebundener Federn dominiert, was dann zu einer Reduzierung der Adhäsionskraft führt.

5.3.8 Cut-off Länge

Die Einführung einer maximal möglichen Auslenkung der Proteine, cut-off Länge genannt, ist eine Möglichkeit eine unrealistische Eigenschaft des Modells zu beseitigen, nämlich dass sich die Federn beliebig weit auslenken lassen. Dadurch kommt es im Modell mitunter zu sehr großen Abreißlängen, die im Experiment nicht beobachtet werden können. Eine cut-off Länge sollte hier Abhilfe schaffen können.

Für eine Potentialtiefe von 14 kbT erkennt man einen deutlichen Einfluss dieser Modifikation. Die Abreißlänge geht merklich zurück, siehe rechte Abbildung in 5.25. Die sehr weichen Federn, welche sehr lange an die Oberfläche binden und für die großen Abreißlängen verantwortlich sind, reißen bei Erreichen der cut-off Länge von der Oberfläche ab.

Bei geringeren Tiefen des Potentials (Abbildung 5.25 links) zeigt die Einführung einer cut-off Länge allerdings keinen Unterschied. Auf Grund des flacheren Potentials und der damit größeren Ablösewahrscheinlichkeit bei gleicher Kraft haben sich selbst die weichen Federn bereits von der Oberfläche gelöst bevor die cut-off Länge wirksam werden würde.

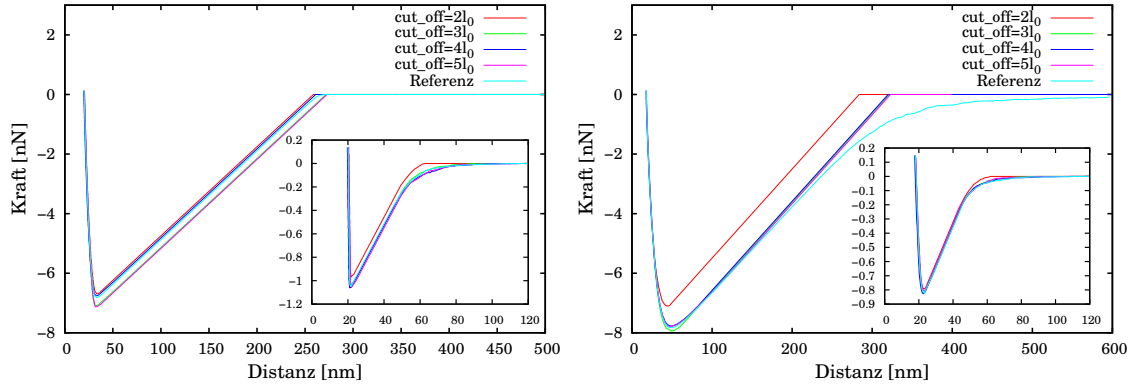


Abbildung 5.25: Auswirkungen einer cut-off Länge für die einzelnen Federn bei einer Potentialtiefe von $8 k_b T$ (links) und $14 k_b T$ (rechts). Für die Referenzkurve wurde das Modell ohne cut-off verwendet.

Der Unterschied zwischen beiden Potentials zeigt sich schon bei den Referenzkurven ohne cut-off Länge. Für $14 k_b T$ läuft die Kurve mit sehr kleinem Gradienten Richtung Nulllinie und man sieht einen glatten Übergang. Ein kleiner Gradient bedeutet, dass das System eine kleine Federkonstante hat und damit, dass sehr weiche Federn gebunden sind.

Im Gegensatz dazu hat man bei $8 k_b T$ einen großen Gradienten beim Übergang zur Nulllinie der Kraft. Hier reißen also alle Federn, auch die weichen, in einer Kaskade ab und man hat einen scharfen Übergang zur Null.

Für sehr kleine cut-off Längen (2-fache Ruhelänge) zeigen sich außerdem Auswirkungen auf den snap-in. Hier werden die thermischen Auslenkungen der weichen Proteine blockiert und der snap-in setzt entsprechend später ein.

Letztlich können die Auswirkungen einer cut-off Länge auch durch geeignete Anpassung von Parametern im Modell ohne cut-off erreicht werden, sodass die Einführung einer cut-off Länge keinen wirklich praktischen Nutzen bringt, das Modell ist dadurch lediglich näher an der Realität.

5.3.9 WLC-Modell

Neben der Einführung einer cut-off Länge im Modell mit linearen Federn ist die Verwendung des Worm-like chain Modells zur Beschreibung des Kraft-Auslenkungsverhaltens der Polymere eine weitere Möglichkeit, das Modell näher an die Realität zu bringen.

Die Kraft als Funktion der Auslenkung $l - l_0$ steigt hier nur für sehr kleine Auslenkungen linear an. Danach bekommt man nichtlineares Verhalten, die Kraft als Funktion der Auslenkung steigt sehr viel schneller an und schließlich divergiert die Kraft wenn die Auslenkung gegen die Konturlänge L des Polymers geht, vgl. Gleichung 5.19: Dadurch sind auch im WLC-Modell nur endliche Auslenkungen der Polymere möglich.

Das WLC-Modell produziert sehr gute Kraft-Abstandskurve verglichen mit den experimentellen Ergebnissen, siehe Abbildungen 5.26 und 5.27. Eine Schwäche des Modells

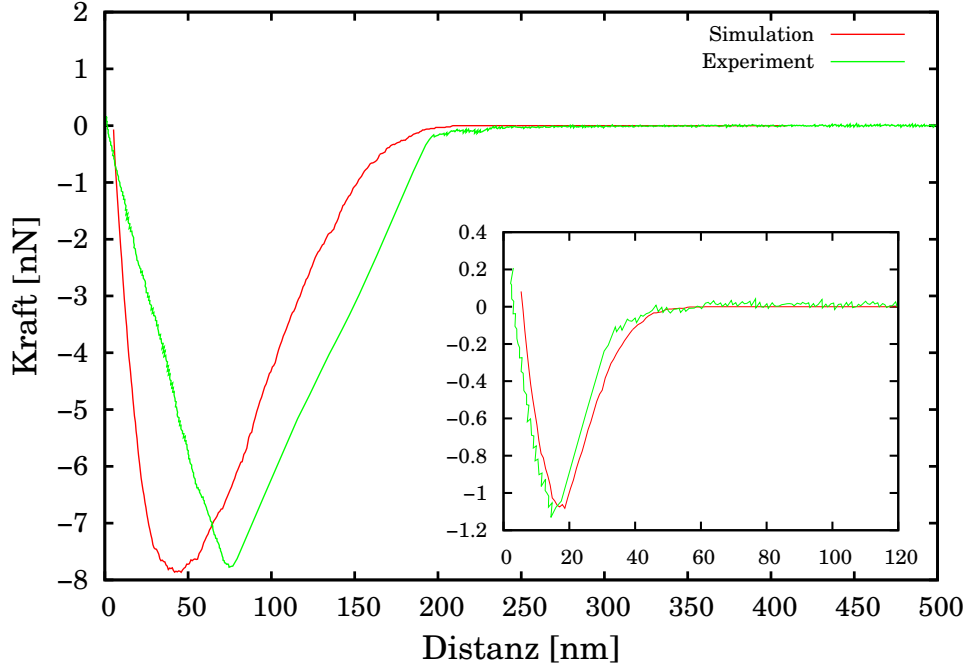


Abbildung 5.26: Kraft-Abstandskurven unter Verwendung des Worm-like chain Modells zur Beschreibung der Auslenkung der Polymere und Vergleich mit Experiment. Die Parameter für die Simulation waren: L gleichverteilt in $[100 \text{ nm}, 500 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.066 \text{ nm}, 0.33 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=5000$, Tiefe des Bindungspotentials $8.5 k_B T$. Der Inset zeigt den snap-in.

mit linearen Federn ist, dass es schwierig ist, die korrekte Abreißlänge zu erhalten. Hier wird diese Länge weitaus besser reproduziert. Durch das viel schnellere Ansteigen der Kraft bei Auslenkung eines Polymers reißen gebundene Polymere bereits bei geringeren Distanzen zur Oberfläche ab.

$$F(l) = -\frac{k_B T}{L_P} * \left(\frac{l - l_0}{L} + \frac{1}{4(1 - (l - l_0)/L)^2} - \frac{1}{4} \right) \quad l > l_0 \quad (5.19)$$

Bemerkenswert ist auch die fast perfekte Reproduktion des experimentellen snap-in's in Abbildung 5.26.

Wir wollen nun Abbildung 5.27 näher betrachten. Die Linke Kurve zeigt eine experimentelle Adhäsionskurven (Rückzug) von *Staphylococcus aureus* auf einer hydrophoben Oberfläche und eine angepasste simulierte Kurve. Vergleicht man die Adhäsionskraft dieser Kurve mit der Adhäsionskraft in Abbildung 5.26 so zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Größe der Kraft. Die Adhäsionskraft zeigt also eine große Diversität für verschiedene Individuen von Bakterien. Dennoch können beide Fälle durch entsprechende Wahl der Parameter im Modell reproduziert werden.

Besonders interessant ist aber der Vergleich der beiden Kurven in Abbildung 5.27. Die rechte Abbildung zeigt die Adhäsionskurve (Rückzug) von *Staphylococcus aureus* auf

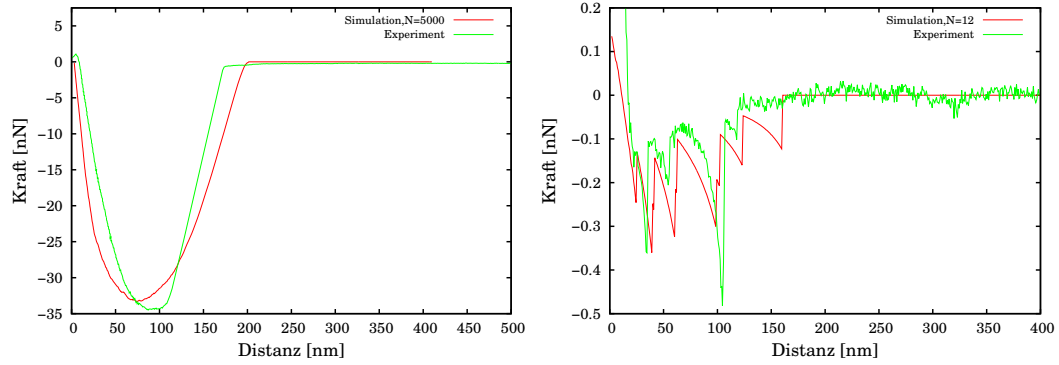


Abbildung 5.27: Linke Kurve: Experimentelle Kurve für hydrophobe Oberfläche und angepasste simulierte Kurve. Parameter für die Simulation: L gleichverteilt in $[60 \text{ nm}, 300 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.036 \text{ nm}, 0.18 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=5000$, Tiefe des Bindungspotentials $18 k_B T$. Rechte Kurve: Experimentelle Kurve für hydrophile Oberfläche und angepasste simulierte Kurve. Parameter für die Simulation: L gleichverteilt in $[40 \text{ nm}, 200 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.026 \text{ nm}, 0.13 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=12$, Tiefe des Bindungspotentials $35 k_B T$.

einer hydrophilen Oberfläche. Im Vergleich zum hydrophoben Fall zeigen sich deutliche qualitative und quantitative Unterschiede.

Für die hydrophobe Oberfläche erhält man eine glatte Kurve, das Verhalten einzelner Polymere ist nicht mehr zu erkennen und es zeigt sich eine sehr viel größere Adhäsionskraft. Dem gegenüber kann man bei der hydrophilen Oberfläche die Kraft-Auslenkungskurven einzelner Polymere und ihr Abreißen von der Oberfläche erkennen und die Adhäsionskraft ist sehr viel kleiner als im hydrophoben Fall.

Beide Fälle können mit unserem Modell reproduziert werden. Die hierbei entscheidenden Parameter sind die Anzahl der Polymere in der Bakterienoberfläche und die Tiefe des Bindungspotentials. Die Konturlänge und die Persistenzlänge im WLC-Modell wurden zwar auch leicht verändert, allerdings diente diese Modifikation hauptsächlich dazu, die jeweilige Abreißlänge zu erhalten.

Im hydrophoben Fall muss im Modell eine große Zahl Polymere ($N=5000$) und eine moderate Tiefe des Potentials ($18 k_B T$) verwendet werden. Um die simulierte Kurve so zu verändern, dass sie den hydrophilen Fall reproduziert muss die Zahl der Polymere drastisch reduziert werden, von $N=5000$ auf $N=12$ und gleichzeitig die Tiefe des Potentials erhöht werden, von $18 k_B T$ auf $35 k_B T$.

Auch wenn das Modell nicht in der Lage ist, durch Anpassen der simulierten Kurven an die experimentellen Kurven, alle biologischen Parameter quantitativ zu bestimmen, so können aber doch einige qualitative Aussagen gemacht werden. Im Fall der hydrophoben/hydrophilen Oberflächen lässt sich festhalten, dass im hydrophoben Fall sehr viele Polymere an die Oberfläche binden, die Bindung eines einzelnen Polymers aber schwächer ist als im hydrophilen Fall. Für diese Oberflächen sind die Einzelbindungen stärker, aber es binden so viel weniger Proteine an die Oberfläche, dass die Adhäsions-

kraft trotzdem deutlich zurück geht.

Jetzt ändert sich durch eine Veränderung der Oberfläche natürlich nicht die Zahl der Proteine in der Bakterienhülle oder die Zusammensetzung dieser Proteine. Es scheint daher so zu sein, dass im hydrophilen Fall andere Sorten von Proteinen an die Oberfläche binden von denen es insgesamt weniger in der Bakterienhülle gibt als von denjenigen Proteinen, die an hydrophobe Oberflächen binden.

5.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Adhäsion von *Staphylococcus aureus* auf hydrophoben und in geringerem Maße auch hydrophilen Oberflächen mittels Monte-Carlo Simulationen untersucht. Dazu wurde aufbauend auf Ergebnissen aus AFM-Kraftspektroskopie-Experimenten ein vereinfachtes Modell entwickelt welches aber trotzdem die wesentlichen Bestandteile des experimentellen Systems enthält. Kern des Modells ist die Annahme, dass die Adhäsion mittels Proteinen in der Bakterienhülle funktioniert, die an das Substrat anhaften und dass diese Proteine als lineare Federn bzw. als Worm-Like-Chain modelliert werden können, die dann stochastisch an das Substrat binden.

Es zeigte sich allgemein eine gute, qualitative Übereinstimmung zwischen experimentellen Daten und den Simulationen. Insbesondere die Simulationen mit negativem Krafttrigger stimmen eindrucksvoll mit den Experimenten überein. Das Gleiche gilt für die Simulationen mit hydrophilen Oberflächen, die das Worm-Like-Chain Modell für die Oberflächenproteine verwenden. Hier stimmt vor allem die snap-in Kurve fast komplett mit der experimentellen Kurve überein.

Zusätzlich wurde in Experiment und Simulation ein System mit quervernetzten Oberflächenproteinen untersucht. Auch hier spiegeln die Modellergebnisse die experimentellen Daten wider.

In den Simulationen wurde zusätzlich noch ein Modell mit rauen Oberflächen erstellt und untersucht, welchen Einfluss eine Rauigkeit des Substrats auf den Adhäsionsprozess hat. Es konnte gezeigt werden, dass die Oberflächenproteine des Bakteriums eine Rauigkeit des Substrats bis zu einem gewissen Grad ausgleichen können. Erst bei größeren Rauigkeiten können die Längenfluktuationen der Proteine die Effekte der Rauigkeit nicht mehr kompensieren und die Adhäsionsfähigkeit des Bakteriums nimmt ab.

Insgesamt konnte durch diese Arbeit zusammen mit den experimentellen Ergebnissen ein gutes Bild des Adhäsionsprozesses von *Staphylococcus aureus* gewonnen werden.

Kapitel 6

Diskussion und Ausblick

In dieser Arbeit wurden zwei Themenblöcke behandelt, einmal die Entwicklung und Implementierung eines Modells zur Simulation von intrazellulärem Transport in realer Geometrie und zum anderen die Adhäsion von *Staphylococcus aureus* auf hydrophoben, abiotischen Oberflächen.

Für das Transportmodell lag der Fokus der Arbeit auf der Entwicklung des Modells und der Implementierung einer lauffähigen Simulationsumgebung, die dann auch für spätere Arbeiten und Anwendungen verwendet werden kann.

Dafür wurde zunächst eine stark vereinfachte Version des Zellinnern modelliert, die nur die Bestandteile MTOC, Mikrotubulie und die molekularen Motoren Kinesin und Dynein enthält, also diejenigen Teile, die das Transportsystem der Zelle stützen. Das MTOC wird als kugelförmig angenommen und im Schwerpunkt der Zelle platziert. Die Mikrotubulie sind semi-flexible Polymere und werden als worm-like Chain mit diskreten Bindungsplätzen modelliert. Die molekularen Motoren sind kugelförmige Objekte, die an die Mikrotubulie binden können und dort eine gerichtete Bewegung ausführen. Kinesin und Dynein bewegen sich dabei in unterschiedliche Richtungen und jeder Bindungsplatz kann nur einfach besetzt werden. Zusätzlich können sich die Motoren von den Mikrotubulie lösen und im Cytoplasma dann frei diffundieren.

Zur Erzeugung einer realistischen Geometrie für die Transportsimulationen wurde die Form einer realen Zelle aus Mikroskopieaufnahmen rekonstruiert. Die Rekonstruktion erfolgte dabei in mehreren Schritten. Zunächst wurde in den einzelnen Aufnahmen, die jeweils einen Querschnitt der Zelle in verschiedenen Ebenen zeigten, die Position der Zellmembran bestimmt. Auf den so erhaltenen Querschnitten der Membran wurden in äquidistantem Abstand Punkte erzeugt und anschließend diese Punkte mit den Punkten der benachbarten Ebenen zu Dreiecken verbunden. Das auf diese Weise erhaltene Dreiecksgitter stellt dann eine triangulierte Rekonstruktion der Zellmembran dar. Der große Vorteil ist, dass eine solche Triangulierung ein Objekt ist, dass durch Knoten, Kanten und Dreiecke beschrieben werden kann, mathematischen Objekten, die im Computer und in Simulationen abgebildet werden können. Damit kann eine realistische Geometrie für die Modellierung nutzbar gemacht werden.

Durch Definition einer geeigneten Energiefunktion kann die triangulierte Oberfläche zudem dynamisch gemacht werden, d.h. sie wird aktiver Teil der Monte-Carlo Simulationen und verändert ihre Form im zeitlichen Verlauf. Zusätzlich können damit auch

Interaktionen von Filamenten und Motoren mit der Membran abgebildet werden.

Für die dynamische Oberfläche wurden zwei Varianten entwickelt, ein Federnetzwerkmodell, bei dem die Kanten der Triangulierung als lineare Federn angenommen werden und das sogenannte Curvature-Modell dessen Energie hauptsächlich auf der Krümmung der Oberfläche basiert. Beide Modelle haben Vor- und Nachteile. Das Federnetzwerkmodell ist numerisch einfacher und erlaubt schnellere Simulationen, hat aber den Nachteil, dass die Konfiguration niedrigster Energie durch die aus den Mikroskopieaufnahmen rekonstruierte Form vorgegeben ist. Das Curvature-Modell ist numerisch deutlich aufwendiger, ist aber das realistischere Modell in dem Sinne, dass die rekonstruierte Form der Zelle energetisch nicht ausgezeichnet ist und die Konfiguration niedrigster Energie eine Kugel ist, die Form, die von einer freien Zelle, d.h. einer Zelle, die nicht auf einem Träger fixiert oder in eine Matrix eingebunden ist, angenommen wird.

Die Transportsimulationen wurden dann in folgenden Geometrien durchgeführt: sphärische Geometrie, rekonstruierte, statische Geometrie sowie rekonstruierte, dynamische Geometrie (Federnetzwerk- und Curvature-Modell). Die Ergebnisse für die verschiedenen Geometrien zeigen keine qualitativen Unterschiede. Dies deutet daraufhin, dass eine Zelle unabhängig von ihrer äußeren Form in der Lage ist, ihr Transportsystem ohne Beeinträchtigung aufrecht zu erhalten.

Das hier entwickelte Modell ist äußerst flexibel und kann durch einfache Modifikationen und Erweiterungen auch für andere Anwendungsfälle nutzbar gemacht werden. In dieser Arbeit wurde das Curvature-Modell für zwei Fälle erweitert, der Bildung von Membranröhren und der Fortbewegung von Zellen. Hier konnte demonstriert werden, dass das Modell stabile Membranröhren nachbilden kann sowie die persistente Fortbewegung von Zellen simuliert werden kann.

Neben einer Vertiefung der bereits in dieser Arbeit durchgeführten Simulationen sind für die Zukunft eine Reihe weiterer Anwendungen denkbar. Dies reicht von der Adhäsion von Zellen auf Oberflächen über die Polarisierung von T-Zellen bis zur Inkorporation von Nanopartikeln in Zellen.

Die Adhäsion von *Staphylococcus aureus* auf abiotischen Oberflächen wurde mittels eines kombinierten Ansatzes aus Experiment und Modellierung/Simulation untersucht. Die Experimente wurden am Lehrstuhl von Prof. Dr. Karin Jacobs an der Universität des Saarlandes durchgeführt und dienten als Grundlage sowie zur Verifizierung der Simulationen. Detaillierte Ergebnisse der Experimente können in [155] nachgelesen werden.

Die Experimente bestehen aus einem einzelnen Bakterium, das an dem Cantilever eines AFM befestigt ist. Der Cantilever mit dem Bakterium wird mit konstanter Geschwindigkeit an die Oberfläche angenähert. Eine mögliche Interpretation bzw. Erklärung der erhaltenen Messkurven ist die Folgende: Durch thermische Fluktuationen werden die Makromoleküle in der Membran des Bakteriums aus ihrer Ruhelage ausgelenkt. Ab einer bestimmten Distanz zur Oberfläche beginnen die ersten dieser Makromoleküle an die Oberfläche zu binden und das Bakterium wird Richtung Oberfläche gezogen (snap-in). Durch die verringerte Distanz können weitere Makromoleküle an die Oberfläche binden und das Bakterium wird weiter an das Substrat gezogen. Durch die kleiner werdende

Distanz werden ab einem gewissen Punkt immer mehr Makromoleküle komprimiert und wirken nicht mehr anziehend sondern repulsiv. Wenn dieser Effekt überwiegt und die Gesamtkraft repulsiv wird und einen bestimmten Krafttrigger erreicht, wird die Bewegung des Cantilevers umgekehrt und er wird von der Oberfläche weggezogen. Dadurch werden die an die Oberfläche gebundenen Makromoleküle ausgelenkt und die Kraft auf den Cantilever steigt an. Während dieses Prozesses beginnen sich die Moleküle von der Oberfläche zu lösen wodurch die Kraft auf die restlichen gebundenen Moleküle steigt. Dies führt zu einem immer schnelleren Ablösen der Makromoleküle von der Oberfläche und schließlich löst sich das Bakterium komplett von der Oberfläche.

Auf Basis dieser Interpretation der experimentellen Ergebnisse und der bekannten Biologie von *Staphylococcus aureus* wurde ein einfaches Modell der Bakterienhülle und des Adhäsionsprozesses entwickelt. Der Cantilever des AFM wird als lineare Feder mit Ruhelänge $l = 0$ modelliert. Das Bakterium haftet am Cantilever und wird als kugelförmiges Objekt angenommen auf dessen Oberfläche Makromoleküle gleichmäßig verteilt sind. Die Makromoleküle werden standardmäßig als lineare Federn modelliert. Als zusätzliche Möglichkeit wurde für die Makromoleküle ein Worm-Like Chain Modell getestet und eine Variante der linearen Federn mit einer maximal möglichen Auslenkung. Die Federkonstante und Ruhelängen der Federn werden als gleichverteilte Zufallszahlen gewählt. Ein Ende der Federn ist immer in der Zellwand verankert, das andere Ende zeigt in Richtung Oberfläche. Die Federn sind dabei immer parallel zur z-Achse ausgerichtet. Das Bindungspotential zwischen den Federn und der Oberfläche wird als Kastenpotential gewählt. Die Ergebnisse für ein ebenfalls getestetes Lennard-Jones Potential weichen qualitativ nicht vom Modell mit Kastenpotential ab, sodass das einfachere Kastenpotential für die Simulationen genutzt wurde. Durch thermische Längenfluktuationen können die Federn im Modell stochastisch an die Oberfläche binden. Das Modell wurde dann mittels Monte-Carlo Verfahren simuliert.

Mit dem eben beschriebenen Modell können die experimentellen Kraft-Abstands-Kurven für jegliche im Experiment überprüften Konfigurationen (z.B. raue Oberflächen, Quervernetzung der Oberflächenproteine, Variation der Annäherungsgeschwindigkeit des Cantilevers, negativer Krafttrigger, etc.) qualitativ sehr gut reproduziert werden. Eine quantitative Anpassung der Simulationskurven wäre im Prinzip durch entsprechende Anpassung der Modellparameter möglich. Dies wäre aber nur begrenzt sinnvoll, da kaum ein Parameter experimentell bestimmbar ist und alle Parameter durch Anpassung der Simulationskurven bestimmt werden müssten. Da es eine ganze Reihe von freien Parametern im Modell gibt würde man mehrere Parametersätze finden für die Modell und Experiment übereinstimmen und man hätte keine Möglichkeit zu entscheiden, welcher Satz die biologischen Gegebenheiten widerspiegelt.

Durch die qualitative Übereinstimmung liefert das entwickelte Modell einen sehr guten Einblick in den Prozess der Adhäsion, ein Vorgang der bisher nur äußerst wenig verstanden ist. Unsere Ergebnisse aus Experiment und Simulationen und vor allem die gegenseitige Beeinflussung von Experiment und Modellbildung bestätigen die zu Grunde liegende Interpretation der experimentellen Kurven. Das Bakterium wechselwirkt mit dem Substrat über Makromoleküle in seiner Hülle. Durch diesen Mechanismus ist die Distanz über die Bakterium und Oberfläche wechselwirken können deutlich größer

als die Reichweite des Oberflächenpotentials. Dies erhöht die Fähigkeit von Bakterien zur Anhaftung an Oberflächen und macht grade pathogene Bakterien zu einem großen Problem wenn es um Oberflächenhygiene geht. Durch den Wechselwirkungsmechanismus über Oberflächenproteine ist die Anhaftung zudem äußerst robust gegenüber strukturellen Modifikationen des Substrats.

Ein interessantes weiteres Ergebnis unserer Arbeit ist eine Erklärung des unterschiedlichen Adhäsionsverhaltens auf hydrophoben und hydrophilen Oberflächen. Um im hydrophoben Fall die experimentelle Kurve zu reproduzieren müssen im Modell eine hohe Zahl von Oberflächenproteinen und ein relativ flaches Bindungspotential verwendet werden. Im Fall hydrophiler Oberflächen benötigt man im Modell eine massiv reduzierte Zahl von Makromolekülen und ein deutlich tieferes Bindungspotential. Übertragen auf die experimentelle Situation bedeutet dies, dass im hydrophilen Fall deutlich weniger Proteine in den Anhaftungsprozess involviert sind, die dafür aber stärkere Einzelbindungen eingehen. Weiter legen die Ergebnisse nahe, dass in beiden Fällen unterschiedliche Arten von Makromolekülen an die Oberfläche binden.

Unsere Erkenntnisse liefern somit einen wichtigen Beitrag zu einem tieferen Verständnis des Prozesses der Adhäsion und damit zu einem Weg diese Anhaftung zu kontrollieren und dann auch gegebenenfalls zu verhindern.

Anhang A

Herleitung der Transformationsmatrizen 4.3 und 4.4

In einem Koordinatensystem R sei der Vektor \vec{r} in Kugelkoordinaten gegeben durch den Koordinatenvektor (vgl. Abbildung A.1):

$$\vec{r} = r \begin{pmatrix} \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ \cos(\vartheta) \end{pmatrix}$$

Wir wollen nun die Transformation auf ein neues Koordinatensystem R_0 finden, in dem \vec{r} durch den Koordinatenvektor

$$\vec{r}_0 = r \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}$$

dargestellt wird.

Betrachtet man Abbildung A.1 so sieht man, dass dafür zwei Drehungen ausgeführt werden müssen. Zuerst eine Drehung um den Winkel ϑ um die y-Achse von R und dann eine zweite Drehung um den Winkel φ um die z-Achse. Die zugehörigen Drehmatrizen für diese Drehungen lauten

$$R_y(\vartheta) = \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) & 0 & \sin(\vartheta) \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \quad R_z(\varphi) = \begin{pmatrix} \cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & 0 \\ \sin(\varphi) & \cos(\varphi) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

Die Hintereinanderausführung zweier Drehungen entspricht dem Matrizenprodukt der entsprechenden Drehmatrizen. Damit berechnet sich die gesuchte Transformationsma-

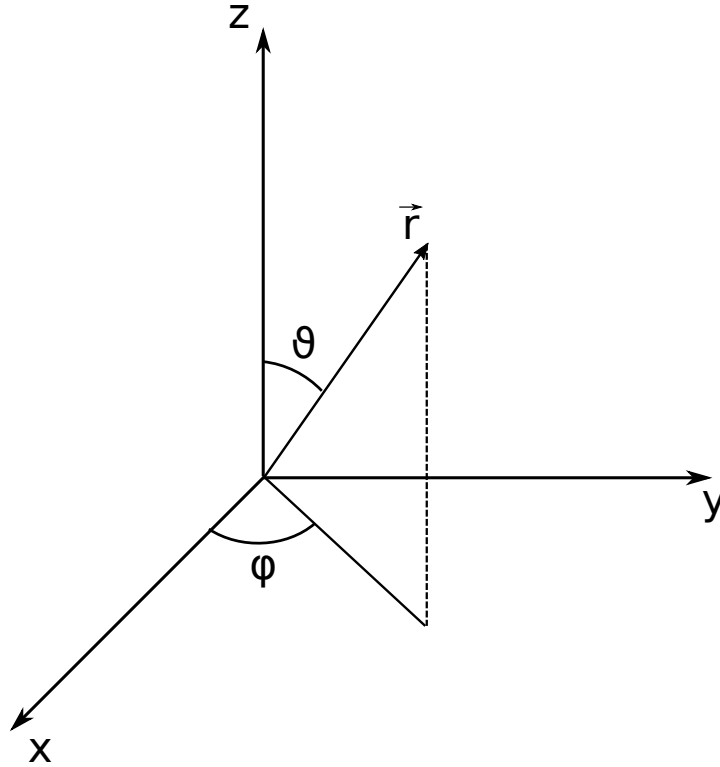


Abbildung A.1: Darstellung eines Vektors \vec{r} in Kugelkoordinaten (r, φ, ϑ) .

trix wie folgt:

$$\begin{aligned}
 T &= R_z(\varphi)R_y(\vartheta) \\
 &= \begin{pmatrix} \cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & 0 \\ \sin(\varphi) & \cos(\varphi) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) & 0 & \sin(\vartheta) \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \\
 &= \begin{pmatrix} \cos(\vartheta)\cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & \cos(\varphi)\sin(\vartheta) \\ \cos(\vartheta)\sin(\varphi) & \cos(\varphi) & \sin(\varphi)\sin(\vartheta) \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix}
 \end{aligned}$$

Man erkennt sofort, dass

$$\vec{r} = T\vec{r}_0$$

gilt und T die korrekte Transformationsmatrix ist. Da T eine Drehung beschreibt ist die Matrix orthogonal, d.h. ihre Spalten bzw. Zeilen aufgefasst als Vektoren haben Länge 1 und stehen senkrecht aufeinander. Damit ist die inverse Matrix T^{-1} gegeben durch

$$T^{-1} = T^t = \begin{pmatrix} \cos(\vartheta)\cos(\varphi) & \cos(\vartheta)\sin(\varphi) & -\sin(\vartheta) \\ -\sin(\varphi) & \cos(\varphi) & 0 \\ \cos(\varphi)\sin(\vartheta) & \sin(\varphi)\sin(\vartheta) & \cos(\vartheta) \end{pmatrix}$$

Man rechnet leicht nach, dass $TT^{-1} = T^{-1}T = \mathbb{I}$ gilt.

Anmerkung: Die Basisvektoren der Koordinatensysteme R und R_0 transformieren sich genau anders herum als die Koordinatenvektoren, ist $\vec{e}_i, i \in \{x, y, z\}$ ein Basisvektor von R und $\vec{e}_{i,0}$ der entsprechende Basisvektor in R_0 so gilt:

$$\vec{e}_i = T^{-1}\vec{e}_{i,0} \quad \text{bzw.} \quad \vec{e}_{i,0} = T\vec{e}_i$$

Ist die Basis von R die Standardeinheitsbasis $\{\vec{e}_x, \vec{e}_y, \vec{e}_z\}$, so gilt z.B. für \vec{e}_x und $\vec{e}_{x,0}$:

$$\begin{aligned} \vec{e}_{x,0} &= \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) & -\sin(\varphi) & \cos(\varphi) \sin(\vartheta) \\ \cos(\vartheta) \sin(\varphi) & \cos(\varphi) & \sin(\varphi) \sin(\vartheta) \\ -\sin(\vartheta) & 0 & \cos(\vartheta) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} \cos(\vartheta) \cos(\varphi) \\ \cos(\vartheta) \sin(\varphi) \\ -\sin(\vartheta) \end{pmatrix} \end{aligned}$$

Anhang B

Übersicht der wichtigsten verwendeten Funktionen der GTS Library

Name	Funktion
<code>gts_point_is_inside_surface()</code>	Test, ob ein Punkt innerhalb einer Oberfläche ist.
<code>gts_bb_tree_point_distance()</code>	Berechnet den Abstand zwischen Punkt und Oberfläche.
<code>gts_vertex_mean_curvature_normal()</code>	Berechnet die diskrete, mittlere Krümmung der Oberfläche an einem Knoten [110].
<code>gts_surface_volume()</code>	Berechnet das Volumen einer geschlossenen Oberfläche.
<code>gts_surface_area()</code>	Berechnet die Fläche einer Oberfläche.
<code>gts_segment_triangle_intersection()</code>	Test, ob eine Kante ein Dreieck schneidet.
<code>gts_surface_coarsen()</code>	Funktion zur Reduzierung der Knotenzahl.
<code>gts_volume_optimized_cost</code>	Kostenfunktion für die Reihenfolge der zu löschenden Kanten.
<code>gts_volume_optimized_vertex</code>	Berechnet einen neuen Knoten als Ersatz für eine gelöschte Kante (Die Kante wird auf den neuen Knoten kollabiert).
<code>gts_surface_refine()</code>	Funktion zur Erhöhung der Knotenzahl.
<code>gts_surface_is_self_intersecting</code>	Testet, ob eine Oberfläche sich selbst schneidet.
<code>gts_surface_is_closed</code>	Testet, ob eine Oberfläche geschlossen ist.

Tabelle B.1: GTS-Funktionen

Anhang C

Beschreibung der Videos auf der beiliegenden DVD

Ordner	Beschreibung
1-Transport-StatistischesModell-Kugel	Transport in statischer, sphärischer Geometrie mit MT-Netzwerk und Kinesin- bzw. Dynein-Motoren.
2-Rekonstruierte-Zelle	Trianguliertes Modell einer realen Zelle, rekonstruiert aus Mikroskopieaufnahmen.
3-Transport-StatistischesModell-RealeGeometrie	Transport in statischer, realer Geometrie mit MT-Netzwerk und Kinesin- bzw. Dynein-Motoren.
4-Transport-DynamischesModell-Federnetzwerkmodell	Transport in dynamischer, realer Geometrie (Federnetzwerkmodell) mit MT-Netzwerk und Kinesin- bzw. Dynein-Motoren.
5-Transport-DynamischesModell-CurvatureModell	Transport in dynamischer, realer Geometrie (Curvature-Modell) mit MT-Netzwerk und Kinesin- bzw. Dynein-Motoren.
6-Entwicklung-DynamischesModell-CurvatureModell	Entwicklung des Curvature-Modells von rekonstruierter Form zu sphärischer Form.
7-Entwicklung-DynamischesModell-CurvatureModell-KeineMTs	Entwicklung des Curvature-Modells in Abwesenheit eines stabilisierenden MT-Netzwerks.
8-Membranröhren-DynamischesModell-CurvatureModell	Entwicklung einer Membranröhre im Curvature-Modell.
9-Zellfortbewegung-DynamischesModell-CurvatureModell	Zellfortbewegung im Curvature-Modell.

Tabelle C.1: Kurzbeschreibung der Videos des Zellmodells auf der beiliegenden DVD

Anhang D

Herleitung von Gleichung 5.7

Gleichung 5.7 bestimmt die Gleichgewichtsposition des Bakteriums für eine gegebene Konfiguration des Systems. Zur Herleitung dieser Gleichung gehen wir von Gleichung 5.6 aus, diese beschreibt die Gesamtenergie des Systems als Funktion des Abstands d des Bakteriums vom Substrat. Die gesuchte Gleichgewichtsposition ist die Position, die Gleichung 5.6 minimiert.

Gleichung 5.6 lautet:

$$E = \frac{1}{2} \sum k_i (d + \Delta d_i - dz_i - l_0^i)^2 + \frac{1}{2} k_c (z_c - d - 2R - l_0^c)^2$$

Um das Minimum dieser Funktion zu finden berechnen wir die erste Ableitung bezüglich d .

$$\frac{dE}{dd} = \sum k_i (d + \Delta d_i - dz_i - l_0^i) - k_c (z_c - d - 2R - l_0^c) \quad (\text{D.1})$$

Die zweite Ableitung nach d ergibt sich dann zu:

$$\frac{d^2 E}{dd^2} = \sum k_i + k_c \quad (\text{D.2})$$

Die zweite Ableitung D.2 ist also konstant und größer 0¹. Damit ist die Nullstelle der ersten Ableitung D.1 ein lokales Minimum.

Nullsetzen der ersten Ableitung D.1 liefert somit das gesuchte Minimum bzw. die Gleichgewichtsposition d_E

$$\sum k_i (d + \Delta d_i - dz_i - l_0^i) - k_c (z_c - d - 2R - l_0^c) = 0$$

Auflösen nach d ergibt:

$$d_E = \frac{k_c (z_c - 2R - l_0^c) - \sum k_i (\Delta d_i - dz_i - l_0^i)}{k_c + \sum k_i}$$

Dies ist genau die gesuchte Gleichung 5.7.

¹Die Federkonstanten k_i der Federn und k_c des Cantilevers sind per Definition immer größer 0.

Anhang E

Gleichungen für raue Oberflächen

Für den Fall rauer Oberflächen bedarf es einer geringfügigen Modifikation der Gleichungen für glatte Oberflächen.

Unverändert bleibt die Ausgangsgleichung, welche die Gesamtenergie des Systems beschreibt (Gleichung 5.2):

$$E = \frac{1}{2} \sum k_i (l_i - l_0^i)^2 + \frac{1}{2} k_c (l_c - l_0^c)^2 \quad (\text{E.1})$$

Durch die Rauigkeit der Oberfläche ändern sich aber nun die Randbedingungen welche einen Zusammenhang zwischen den Parametern des Systems liefern, vgl. Abbildung E.1.

Die Position des Cantilevers ist dabei unverändert gegeben durch

$$z_c = l_c + 2R + d$$

Um die Rauigkeit der Oberfläche zu berücksichtigen wird eine neue Variable eingeführt, $h(x, y)$, welche die Höhe der Oberfläche in z -Richtung an dem Punkt (x, y) beschreibt. Die Höhe an der Stelle, an der Feder i an die Oberfläche bindet, wird mit h_i bezeichnet. Das Koordinatensystem ist dabei so gewählt, dass für die mittlere Höhe $\langle h(x, y) \rangle = 0$ gilt.

Damit ergeben sich veränderte Zusammenhänge zwischen den Variablen, die das Federensemble beschreiben. Es gilt:

$$z_i - h_i = dz_i + l_i \Leftrightarrow z_i - l_i = dz_i + h_i$$

Zusammen mit

$$z_i = d + \Delta d_i$$

ergibt sich

$$l_i = d + \Delta d_i - dz_i - h_i$$

Durch einsetzen in Gleichung E.1 erhält man

$$E = \frac{1}{2} \sum k_i (d + \Delta d_i - dz_i - h_i - l_0^i)^2 + \frac{1}{2} k_c (z_c - d - 2R - l_0^c)^2 \quad (\text{E.2})$$

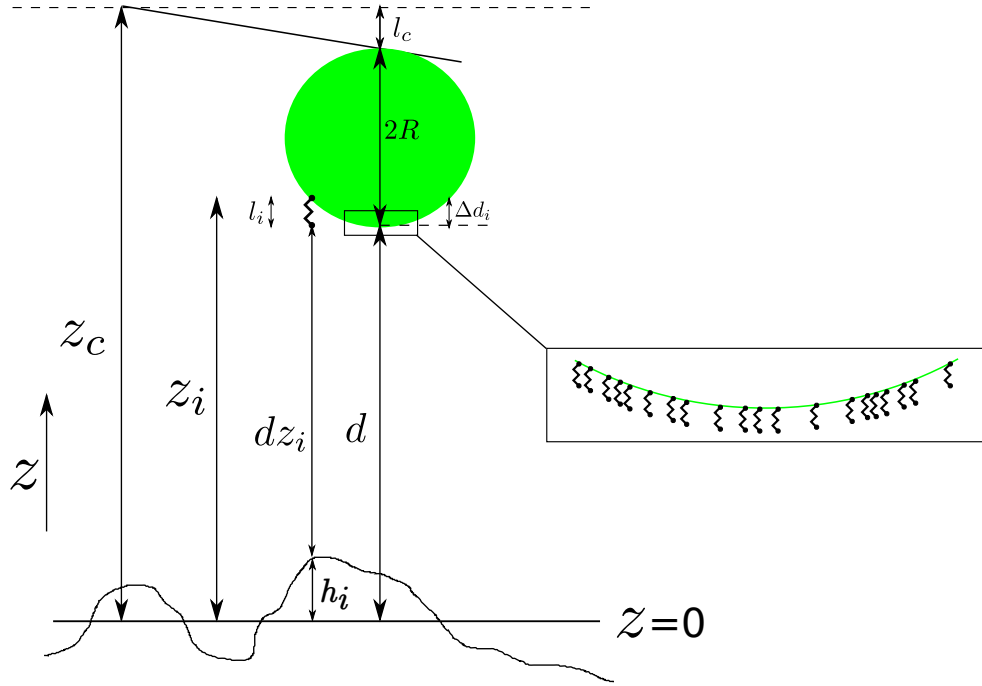


Abbildung E.1: Schematische Darstellung des Modells für den Fall rauer Oberflächen.

Dies ist eine zu Gleichung 5.6 völlig analoge Gleichung und auch hier erhält man die Gleichgewichtsposition des Bakteriums durch Berechnung des energetischen Minimums, d.h. durch Nullsetzen der Ableitung von E.2 nach d .

$$\frac{dE}{dd} = \sum k_i(d + \Delta d_i - dz_i - h_i - l_0^i) - k_c(z_c - d - 2R - l_0^c) = 0 \quad (\text{E.3})$$

Die zweite Ableitung nach d ergibt sich analog zum Fall glatter Oberflächen:

$$\frac{d^2E}{dd^2} = \sum k_i + k_c \quad (\text{E.4})$$

Durch Auflösen von Gleichung E.3 nach d erhält man somit tatsächlich ein Minimum:

$$d_E = \frac{k_c(z_c - 2R - l_0^c) - \sum k_i(\Delta d_i - dz_i - h_i - l_0^i)}{k_c + \sum k_i} \quad (\text{E.5})$$

Dies ist die zu Gleichung 5.7 analoge Gleichung für den Fall rauer Oberflächen.

Anmerkung: Glatte Oberflächen sind als Spezialfall in Gleichung E.5 enthalten, für $h_i = 0 \ \forall i$ reduziert sich Gleichung E.5 zu Gleichung 5.7.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematische Darstellung des ASEP auf einem periodischen (links) bzw. einem offenen (rechts) Gitter. Quelle: [103]	6
2.2	Phasendiagramm des offenen TASEP als Funktion der Eintritts- und Austrittsraten α und β mit den Phasen Niedrigdichtephase (II), Hochdichtephase (III) und Maximalstromphase (I). Hervorgehoben in Fettdruck ist die Koexistenzlinie für $\alpha = \beta < 1/2$. Quelle: [29]	7
2.3	Darstellung eines Gittergasmodells mit zwei Spuren und zwei Teilchensorten. Auf der unteren Spur führen die Teilchen eine gerichtete Bewegung in entgegengesetzter Richtung aus wobei kein Platz doppelt besetzt sein darf während sie auf der oberen Spur wechselwirkungsfrei diffundieren. Ein Wechsel der Spur ist dabei erlaubt. Quelle: [35]	11
2.4	Schematische Darstellung des FRC-Modells. Der Bindungswinkel θ hat einen festen Wert während der Torsionswinkel ϕ beliebig ist und alle Werte gleich wahrscheinlich sind. Quelle: [52]	13
2.5	Beispiel einer triangulierten Oberfläche mit unterschiedlichen Feinheitsgraden. Quelle: [1].	18
2.6	Schematische, lokale Darstellung einer Triangulierung zur Definition der verwendeten Bezeichnungen. Jede Triangulierung besteht aus einem Satz von Dreiecken t . Die Dreiecke wiederum bestehen aus Knoten \vec{r}_i und Kanten \vec{e}_i	19
2.7	Illustrative Darstellung des Konzeptes der Bounding-Box Trees. Jeder Knoten speichert eine Box um alle seine Kinder. Die Endknoten enthalten die eigentlichen Objekte und der Wurzelknoten alle anderen Boxen sowie alle Objekte. Quelle: [2]	20
2.8	(a) Tangentenebene an einen Punkt für eine kontinuierliche Oberfläche mit den zwei Hauptkrümmungsrichtungen \vec{e}_1 und \vec{e}_2 sowie dem Normalenvektor \vec{n} . (b) Voronoi-Zelle um einen Knoten für eine triangulierte Fläche. (c) Barizentrische Zelle um einen Knoten für eine triangulierte Fläche. Quelle: [111]	21
2.9	(a) 1-Ring Nachbarschaft eines Knotens und die einer Kanten gegenüberliegende Winkel. (b) Voronoi-Regionen für ein nicht-stumpfes Dreieck. (c) Äußere Winkel eines Voronoi-Diagramms. Quelle: [111]	23
2.10	Veranschaulichung der Knotenreduktion für eine triangulierte Oberfläche. Die Kante e wird entfernt und ihre zugehörigen Knoten verschmelzen zu einem einzigen Knoten. Die benachbarten Kanten und Dreiecke werden entsprechend angepasst. Quelle: [96]	24

3.1	a) Protofilament mit den α/β -Tubulin Dimeren, sowohl GTP und GDP gebunden. b) 13 Protofilamente bilden einen Hohlzylinder, den Mikrotubulus. c) Dynamischer Instabilitätszyklus eines Mikrotubulus. Die Mikrotubuli wechseln zwischen Phasen der Polymerisation und der Depolymerisation. Der Übergang von Polymerisation zu Depolymerisation wird <i>Katastrophe</i> genannt, der Wechsel von Depolymerisation zu Polymerisation <i>Rettung</i> . Im wachsenden Zustand polymerisiert der Mikrotubulus mit GTP-gebundenen Dimeren, das GTP hydrolysiert im weiteren Verlauf zu GDP. Die Polymerisation kann stoppen und sich umkehren, der Mikrotubulus beginnt zu depolymerisieren. Die GDP-gebundenen Dimere im Cytosol können ihr GDP durch GTP ersetzen und dann in einen weiteren Mikrotubulus polymerisieren. Quelle: [5] . . .	34
3.2	Schematische Darstellung des Fortbewegungsmechanismus eines Kinesin Motors. Die beiden Köpfe arbeiten in einem koordinierten Mechanismus um sich prozessiv auf dem Filament fortzubewegen und die Last zu transportieren. Quelle: [74]	36
4.1	Schematische Darstellung der Dynamik der Mikrotubuli im Modell mit den möglichen Prozessen Nukleation, Schrumpfen, Wachsen, Rettung und Katastrophe.	44
4.2	Schematische Darstellung des verwendeten Mikrotubulimodells. Die Winkel Θ_i sind normalverteilt mit Mittelwert $\langle \Theta_i \rangle = 0$ und Varianz $\sigma^2 = \text{var}(\Theta_i) = \langle \Theta_i^2 \rangle = \frac{2d}{L_p}$	46
4.3	Links: Verteilung der vom verwendeten Algorithmus erzeugten Winkel Θ_i . Rechts: Richtungskorrelation der Tangenten als Funktion des Abstandes entlang der Filamentkontur. Die Winkel sind wie erwartet normalverteilt und die Korrelationen nehmen exponentiell mit dem Abstand ab.	48
4.4	Darstellung der im Modell verwendeten Teilchendynamik. Nicht an ein Filament gebundene Motoren können unter Beachtung von Ausschlusswechselwirkung frei diffundieren. Motoren, die gebunden sind, führen auf dem Filament eine gerichtete Bewegung aus, wobei jeder Bindungsplatz nur einfach besetzt werden kann und die beiden Sorten von Motoren jeweils in entgegengesetzter Richtung laufen. Gebundene Motoren können sich vom Filament lösen während sich ungebundene Motoren wieder an das Filament binden können.	50
4.5	Visualisierung der vom Modell erzeugten Simulationsumgebung in sphärischer Geometrie mit den Bestandteilen MTOC, Mikrotubuli (Grün) sowie den Motormolekülen Kinesin (Rot) und Dynein (Blau).	52
4.6	Mikroskopieaufnahmen der für die Rekonstruktion der Zellform verwendeten Zelle mit fluoreszierend markiertem Mikrotubulinetzwerk. Dargestellt sind sechs verschiedene Querschnittsaufnahmen, der Abstand vom Mikroskopieträger steigt dabei von links oben nach rechts unten.	53

4.7	Die Abbildung zeigt die Aufnahmen aus Abb. 4.6 in schwarz-weiß. Eingezeichnet in weiß ist die wahrscheinliche Position der Zellmembran.	54
4.8	Erzeugen eines Dreiecksgitters zwischen zwei Ebenen der aus den Mikrokopieaufnahmen rekonstruierten Zellmembran. Auf der Membran in äquidistantem Abstand verteilte Punkte werden zu Dreiecken verbunden und die Kontur mittels periodischer Randbedingungen geschlossen.	55
4.9	Schließen der triangulierten Oberfläche. Für die erste und die letzte Ebene wird im Schwerpunkt ein zusätzlicher Punkt erzeugt sowie jeweils ein Punkt in der Mitte der Strecke von diesem Schwerpunkt zu den Punkten auf der Membran. Anschließend werden die Punkte nach dem dargestellten Schema zu Dreiecken verbunden.	56
4.10	Darstellung der rekonstruierten, triangulierten Zelle. Die Triangulierung besteht aus 1352 Knoten, 4050 Kanten und 2700 Dreiecken. Die Visualisierung wurde mittels eines Raytracing-Programms (POV-Ray [3]) erzeugt. Für weitergehende Visualisierungen wird auf die Videos auf der beiliegenden DVD verwiesen.	57
4.11	Visualisierung der vom Modell erzeugten Simulationsumgebung in realer Geometrie mit den Bestandteilen rekonstruierte, triangulierte Zellmembran, MTOC, Mikrotubuli (Grün) sowie den Motormolekülen Kinesin (Rot) und Dynein (Blau).	58
4.12	Einfluss einer Kollokalisierung des Teilchen-Inputs mit dem Filamentnetzwerk auf die Teilchendichten im System. Der Abstand zwischen Massenmittelpunkt und Zellmembran wurde dabei für jede Richtung auf 1 skaliert.	59
4.13	Einfluss der Diffusionsrate ω_D auf die Teilchendichten. Die Diffusionsrate wurde im Vergleich zur Referenz um den Faktor 10 verringert bzw. erhöht. Im Fall der erhöhten Nukleationsrate ω_n wurde diese verdoppelt.	61
4.14	Einfluss der Persistenzlänge L_p der Mikrotubuli auf die Dichten von Plus- und Minus-Teilchen. Die Persistenzlänge wurde im Vergleich zur Referenz jeweils um den Faktor 10 verringert bzw. erhöht.	62
4.15	Schematische Darstellung der lokalen Änderung der Triangulierung bei Verschiebung eines Knotens \vec{r} . Die Änderung der Energie wird im Federnetzwerkmodell durch die Änderung der Längen der roten Kanten verursacht. Die neue Konfiguration nach Verschiebung ist in grün dargestellt.	65
4.16	Filament- und Motorendichte im Federnetzwerkmodell. Die Ergebnisse unterscheiden sich qualitativ nicht von Simulationen im statischen Modell.	66
4.17	Schematische Darstellung des Verfahrens zur Knotenreduktion. Die blaue Kante wird vernichtet und durch einen Knoten ersetzt. Dabei verschwinden die zwei Dreiecke, die an die blaue Kante angrenzen.	69
4.18	Schematische Darstellung des Verfahrens zur Erhöhung der Knotenzahl. In der Mitte der blauen Kante wird ein zusätzlicher Knoten erzeugt und diese damit in zwei Kanten gesplittet. Es entstehen zwei neue Dreiecke.	69

4.19	Beispielhafte Entwicklung der triangulierten Oberfläche in den Simulationen mit Curvature-Modell. Die rekonstruierte Form entwickelt sich unter freien Randbedingungen zunächst zu einer Kugel. Die Verteilung der Knoten auf der Oberfläche wird aber zunehmend inhomogener. Aktiviert man zusätzlich das Verfahren zur Umordnung der Knoten wird die Verteilung wieder deutlich homogener.	71
4.20	Durch eine leichte Anpassung des Modells kann die Bildung von Membranröhren simuliert werden. Dafür wird eine durch das Aktinnetzwerk erzeugte, radial nach außen wirkende und räumlich lokalisierte Kraft hinzugefügt. Im Wirkungsbereich der Kraft bildet sich dann eine Membranröhre.	72
4.21	Mit Hilfe einer ähnlichen Anpassung wie zur Erzeugung einer Nanoröhre kann die Fortbewegung von Zellen simuliert werden. Dazu wird eine Kraft hinzugefügt, die parallel zur z-Achse gerichtet ist und auf alle Knoten der Oberfläche mit positiver z-Koordinate wirkt. Dadurch wird die Membran in positive z-Richtung gedrückt und durch ein gleichzeitiges Nachlaufen der Knoten mit negativer z-Koordinate bewegt sich die Zelle in positiver z-Richtung.	73
4.22	Filament- und Motorendichte im Curvature-Modell. Die Ergebnisse unterscheiden sich qualitativ nicht von Simulationen im Federnetzwerkmodell und im statischen Modell.	74
5.1	Beispielhafte experimentelle Standardkurve zur Erklärung der relevanten Größen. Annäherungskurve in Rot, Rückzugskurve in Grün. Der Inset zeigt die Annäherungskurve separat.	79
5.2	Oben: Schematische Darstellung des Modells. Das Bindungspotential ist in blau angedeutet. Unten: Kastenförmiges Bindungspotential.	82
5.3	Vergleich der Rückzugskurven für verschiedene Werte des Parameters u bei konstanter Federdichte. Zahl der Federn für $u = -0.9$ ist $N = 300$ in der linken Abbildung und $N = 3000$ in der rechten Abbildung. Der Inset zeigt die Annäherungskurve.	88
5.4	Links: Darstellung des Lennard-Jones Potentials in dimensionslosen Einheiten. Rechts: Vergleich der simulierten Kurven für Kastenpotential und Lennard-Jones Potential. Die Parameter für das Lennard-Jones Potential sind: $r_m = 1.5 \text{ nm}$ und $\epsilon = 18 k_B T$. Der Inset zeigt die Annäherungskurve separat.	90
5.5	Links: Überlagerung von 20 experimentellen Kraft-Distanzkurven. Rechts: 20 Kraft-Distanzkurve aus MC-Simulationen des Modells mit Standardparametersatz. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven separat.	91
5.6	Kraft-Distanzkurven mit negativem Krafttrigger (Partialkurven). Die linke Spalte zeigt die experimentellen Kurven, die rechte Spalte die simulierten Kurven.	93

5.7	Vergleich der Messkurven für freies und quervernetztes System aus Experiment und Simulation. Links: Experiment. Rechts: Simulation. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven separat.	95
5.8	Schematische Darstellung des Diskretisierungsgitters zur Erzeugung der rauen Oberflächen. Die Fläche wird in Rechtecke aufgeteilt und jeder Zelle (i, j) eine Höhe $h(i, j)$ zugeordnet.	96
5.9	Vergleich von simulierten Kraft-Distanz Kurven für raue und glatte Oberflächen für das freie System. Links: Annäherungskurve. Rechts: Rückzugskurve.	99
5.10	Abbildung zur Illustration des Begriffs der Kontaktfläche im Kontext dieser Arbeit: Auf der glatten Oberfläche links können in diesem Beispiel alle drei dargestellten Proteine binden, auf der sehr rauen Oberfläche rechts kann dagegen nur ein Protein binden. Für die beiden anderen Proteine ist die Oberfläche nicht in Reichweite. Die für eine Bindung zur Verfügung stehende Teilfläche des Substrats, also die Kontaktfläche, ist im Fall der rauen Oberfläche daher kleiner. Dieser Effekt kommt nur für große Rauigkeiten zu Stande. Ist die Rauigkeit im Bereich der Längenfluktuationen der Proteine, wie in der mittleren Abbildung, so können auch im Fall der rauen Oberfläche alle drei Proteine binden und die Kontaktfläche ist identisch zum Fall der glatten Oberfläche.	100
5.11	Vergleich von Kraft-Distanz Kurven für raue und glatte Oberflächen für quervernetztes System. Links: Annäherungskurve. Rechts: Rückzugskurve.	101
5.12	Oben: Simulierte Kraft-Distanz Kurven (freies System) für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 3$ nm und verschiedene Diskretisierungen der Oberfläche. Für jede der Zellengrößen sind 10 Kurven dargestellt. Unten: Gleiches Szenario wie oben, aber für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 48$ nm. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven.	102
5.13	Oben: Simulierte Kraft-Distanz Kurven (quervernetztes System) für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 3$ nm und verschiedene Diskretisierungen der Oberfläche. Für jede der Zellengrößen sind 10 Kurven dargestellt. Unten: Gleiches Szenario wie oben, aber für eine Rauigkeit von $R_{rms} = 48$ nm. Der Inset zeigt jeweils die Annäherungskurven.	103
5.14	Links: Maximale Anzahl der gebundenen Federn N_{max} als Funktion der Gesamtzahl der Federn N . Rechts: Zahl der gebundenen Federn am Punkt der Adhäsionskraft N_a als Funktion der Gesamtzahl der Federn N .	105
5.15	Mittlere Adhäsionskraft und mittlere snap-in Kraft als Funktion der Gesamtzahl der Federn N für verschiedene Potentialtiefen.	106
5.16	Adhäsionskraft als Funktion der Zahl der gebundenen Federn am Punkt der Adhäsionskraft (N_a).	107
5.17	Rückzugskurven für verschiedene Gesamtzahlen von Federn. Der Inset zeigt die Annäherungskurve. Tiefe des Potentials für alle Kurven: 14 kbT	108
5.18	Links: Mittlere snap-in Kraft als Funktion der Potentialtiefe für verschiedene Gesamtzahlen von Federn. Rechts: Maximale Zahl gebundener Federn als Funktion der Potentialtiefe.	109

5.19	Mittlere Adhäsionskraft als Funktion der Potentialtiefe für verschiedene Gesamtzahlen von Federn.	110
5.20	Rückzugskurven für verschiedene Tiefen des Bindungspotentials. Der Inset zeigt die Annäherungskurven. Gesamtzahl der Federn für alle Kurven: $N=3000$	111
5.21	Variation von Teilchenzahl und Potentialtiefe, sodass die Adhäsionskraft konstant bleibt. Restliche Parameter: Standardparametersatz.	112
5.22	Auswirkungen auf die Kraft-Distanzkurven bei Variation des Intervalls der Federkonstanten. Referenzintervall aus Standardparametersatz: $I_s = [5 \cdot 10^{-6} \text{ nN/nm}, 10^{-3} \text{ nN/nm}]$	113
5.23	Die Ruhelänge l_0 der Federn wurde hier aus einer Normalverteilung gezogen mit den Parametern $\langle l_0 \rangle = 30 \text{ nm}$ und variabler, im Graph angegebener Varianz σ^2 . Ansonsten wurde der Standardparametersatz verwendet. Der Inset zeigt die Annäherungskurve.	116
5.24	Einfluss der Variation der Zahl der MC-Sweeps pro AFM-Schritt auf die Kraft-Abstandskurven im Modell. Oben: Annäherungskurve. Unten: Rückzugskurve. Es wurde ansonsten der Standardparametersatz verwendet. In der Legende ist immer die Zahl der MC-Sweeps pro AFM-Schritt in der Simulation angegeben. Will man weniger als einen Sweep pro Schritt machen, muss man die AFM-Schrittweite erhöhen. Dies wurde in den ersten beiden Kurven getan, für die grüne Kurve wurde die AFM-Schrittweite verdoppelt und für die rote Kurve verzehnfacht. Dann wurde für jeden dieser neuen Schritte jeweils ein MC-Sweep ausgeführt.	118
5.25	Auswirkungen einer cut-off Länge für die einzelnen Federn bei einer Potentialtiefe von $8 k_b T$ (links) und $14 k_b T$ (rechts). Für die Referenzkurve wurde das Modell ohne cut-off verwendet.	120
5.26	Kraft-Abstandskurven unter Verwendung des Worm-like chain Modells zur Beschreibung der Auslenkung der Polymere und Vergleich mit Experiment. Die Parameter für die Simulation waren: L gleichverteilt in $[100 \text{ nm}, 500 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.066 \text{ nm}, 0.33 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=5000$, Tiefe des Bindungspotentials $8.5 k_B T$. Der Inset zeigt den snap-in.	121
5.27	Linke Kurve: Experimentelle Kurve für hydrophobe Oberfläche und angepasste simulierte Kurve. Parameter für die Simulation: L gleichverteilt in $[60 \text{ nm}, 300 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.036 \text{ nm}, 0.18 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=5000$, Tiefe des Bindungspotentials $18 k_B T$. Rechte Kurve: Experimentelle Kurve für hydrophile Oberfläche und angepasste simulierte Kurve. Parameter für die Simulation: L gleichverteilt in $[40 \text{ nm}, 200 \text{ nm}]$, L_P gleichverteilt in $[0.026 \text{ nm}, 0.13 \text{ nm}]$, Zahl der Polymere $N=12$, Tiefe des Bindungspotentials $35 k_B T$	122
A.1	Darstellung eines Vektors \vec{r} in Kugelkoordinaten (r, φ, ϑ)	130
E.1	Schematische Darstellung des Modells für den Fall rauer Oberflächen.	140

Tabellenverzeichnis

4.1	Parameter für die MT-Dynamik.	45
4.2	Parameter für die Dynamik der molekularen Motoren.	51
5.1	Standardwerte der Modellparameter.	83
5.2	Anzahl der Federn in Abhängigkeit des Parameters u sodass die Feder- dichte konstant bleibt.	89
5.3	Parameter zur Erzeugung der rauen Oberflächen.	98
5.4	Zusammenfassung der Exponenten für die funktionalen Zusammenhänge zwischen N , N_{max} , N_a und F_a	107
B.1	GTS-Funktionen	133
C.1	Kurzbeschreibung der Videos des Zellmodells auf der beiliegenden DVD	135

Literaturverzeichnis

- [1] The gts library. <http://gts.sourceforge.net>.
- [2] https://commons.wikimedia.org/wiki/file:example_of_bounding_volume_hierarchy.svg.
- [3] The persistence of vision raytracer. <http://www.povray.org/>.
- [4] P. Agarwal, J. Erickson, and L. Guibas. Kinetic binary space partitions for triangles. In *9th ACM-SIAM Symp. Discrete Algorithms*, 1998.
- [5] Anna Akhmanova and Michel O. Steinmetz. Tracking the ends: a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9(4):309–322, April 2008.
- [6] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Peter Walter, Julian Lewis, Martin Raff, and Keith Roberts. *Molecular Biology of the Cell*. Taylor & Francis, 5th revised edition (REV). edition, November 2007.
- [7] C. Appert-Rolland, M. Ebbinghaus, and L. Santen. Intracellular transport driven by cytoskeletal motors: General mechanisms and defects. *Physics Reports*, 593:1–59, September 2015.
- [8] Peter Arndt, Thomas Heinzel, and Vladimir Rittenberg. First-order phase transitions in one-dimensional steady states. *Journal of Statistical Physics*, 90(3):783–815, February 1998.
- [9] Peter F. Arndt, Thomas Heinzel, and Vladimir Rittenberg. Spontaneous breaking of translational invariance in one-dimensional stationary states on a ring. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 31(2):L45–L51, 1998.
- [10] Peter F. Arndt, Thomas Heinzel, and Vladimir Rittenberg. Stochastic models on a ring and quadratic algebras. the three-species diffusion problem. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 31(3):833–843, 1998.
- [11] Peter F. Arndt, Thomas Heinzel, and Vladimir Rittenberg. Spontaneous breaking of translational invariance and spatial condensation in stationary states on a ring. i. the neutral system. *Journal of Statistical Physics*, 97(1):1–65, October 1999.
- [12] Peter F. Arndt and Vladimir Rittenberg. Spontaneous breaking of translational invariance and spatial condensation in stationary states on a ring. II. the charged system and the two-component burgers equations. *Journal of Statistical Physics*, 107(5):989–1013, June 2002.

- [13] Franz Aurenhammer. Voronoi diagrams-a survey of a fundamental geometric data structure. *ACM Comput. Surv.*, 23(3):345–405, September 1991.
- [14] G. Barequet, B. Chazelle, L.J. Guibas, J.S.B. Mitchell, and A. Tal. Boxtree: A hierarchical representation for surfaces in 3d. *Computer Graphics Forum*, 15(3):387–396, August 1996.
- [15] M Bellion, L Santen, H Mantz, H Hähl, A Quinn, A Nagel, C Gilow, C Weitenberg, Y Schmitt, and K Jacobs. Protein adsorption on tailored substrates: long-range forces and conformational changes. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 20(40):404226, 2008.
- [16] R. A. Blythe. An introduction to phase transitions in stochastic dynamical systems. *Journal of Physics: Conference Series*, 40:1–12, 2006.
- [17] R. A. Blythe and M. R. Evans. Nonequilibrium steady states of matrix-product form: a solver’s guide. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 40(46):R333–R441, 2007.
- [18] B. R. Brinkley. Microtubule organizing centers. *Annu. Rev. Cell. Biol.*, 1(1):145–172, November 1985.
- [19] Manfredo P. Do Carmo. *Differential Geometry of Curves and Surfaces*. Prentice-Hall, 1976.
- [20] Manfredo P. Do Carmo. *Riemannian Geometry*. Birkhäuser Boston, 1992.
- [21] N. J. Carter and R. A. Cross. Mechanics of the kinesin step. *Nature*, 435:308, May 2005.
- [22] Juliane P. Caviston and Erika L. F. Holzbaur. Microtubule motors at the intersection of trafficking and transport. *Trends in Cell Biology*, 16(10):530–537, October 2006.
- [23] D Chowdhury, A Basu, A Garai, P Greulich, K Nishinari, A Schadschneider, and T Tripathi. Intra-cellular traffic: bio-molecular motors on filamentary tracks. *EUROPEAN PHYSICAL JOURNAL B*, 64(3-4):593–600, August 2008.
- [24] Simon R. Clarke and Simon J. Foster. Surface adhesins of staphylococcus aureus. volume 51 of *Advances in Microbial Physiology*, pages 187 – 224. Academic Press, 2006.
- [25] M. Clincy, M. R. Evans, and D. Mukamel. Symmetry breaking through a sequence of transitions in a driven diffusive system. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 34(47):9923–9937, 2001.
- [26] A I Curatolo, M R Evans, Y Kafri, and J Tailleur. Multilane driven diffusive systems. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 49(9):095601, 2016.

- [27] Pierre-Gilles de Gennes. *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell University Press, 1979.
- [28] Imre Derényi, Frank Jülicher, and Jacques Prost. Formation and interaction of membrane tubes. *Phys. Rev. Lett.*, 88:238101, May 2002.
- [29] B. Derrida. An exactly soluble non-equilibrium system: The asymmetric simple exclusion process. *Physics Reports*, 301(1-3):65–83, July 1998.
- [30] B. Derrida, E. Domany, and D. Mukamel. An exact solution of a one-dimensional asymmetric exclusion model with open boundaries. *Journal of Statistical Physics*, 69(3):667–687, November 1992.
- [31] B. Derrida, M. R. Evans, V. Hakim, and V. Pasquier. Exact solution of a 1D asymmetric exclusion model using a matrix formulation. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 26(7):1493–1517, 1993.
- [32] B. Derrida, S. A. Janowsky, J. L. Lebowitz, and E. R. Speer. Exact solution of the totally asymmetric simple exclusion process: Shock profiles. *Journal of Statistical Physics*, 73(5):813–842, December 1993.
- [33] B. Derrida, S. A. Janowsky, J. L. Lebowitz, and E. R. Speer. Microscopic-shock profiles: Exact solution of a non-equilibrium system. *EPL (Europhysics Letters)*, 22(9):651–656, 1993.
- [34] Yves F. Dufrêne. Sticky microbes: forces in microbial cell adhesion. *Trends in Microbiology*, 23(6):376 – 382, 2015.
- [35] M. Ebbinghaus, C. Appert-Rolland, and L. Santen. Bidirectional transport on a dynamic lattice. *Physical Review E*, 82(4):040901, October 2010.
- [36] M Ebbinghaus, C Appert-Rolland, and L Santen. Particle interactions and lattice dynamics: scenarios for efficient bidirectional stochastic transport? *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2011(07):P07004, 2011.
- [37] Maximilian Ebbinghaus and Ludger Santen. A model for bidirectional traffic of cytoskeletal motors. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2009(03):P03030, 2009.
- [38] Maximilian Ebbinghaus and Ludger Santen. Theoretical modeling of aging effects in microtubule dynamics. *Biophysical Journal*, 100(4):832–838, February 2011.
- [39] David W. Erickson, Gunnar Pruessner, B. Schmittmann, and R. K. P. Zia. Spurious phase in a model for traffic on a bridge. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 38(41):L659–L665, 2005.
- [40] C Erlenkämper and K Kruse. Uncorrelated changes of subunit stability can generate length-dependent disassembly of treadmilling filaments. *Physical Biology*, 6(4):046016, 2009.

- [41] M. Evans, D. Foster, C. Godrèche, and D. Mukamel. Asymmetric exclusion model with two species: Spontaneous symmetry breaking. *Journal of Statistical Physics*, 80(1):69–102, July 1995.
- [42] M. R. Evans, D. P. Foster, C. Godreche, and D. Mukamel. Spontaneous symmetry breaking in a one dimensional driven diffusive system. *Physical Review Letters*, 74(2):208, January 1995. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [43] M. R. Evans and T. Hanney. Nonequilibrium statistical mechanics of the zero-range process and related models. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 38(19):R195–R240, 2005.
- [44] M. R. Evans, R. Juhasz, and L. Santen. Shock formation in an exclusion process with creation and annihilation. *Physical Review E*, 68(2):026117, 2003. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [45] M. R. Evans, R. Juhász, and L. Santen. Shock formation in an exclusion process with creation and annihilation. *Phys. Rev. E*, 68:026117, Aug 2003.
- [46] M R Evans, Y Kafri, K E P Sugden, and J Tailleur. Phase diagrams of two-lane driven diffusive systems. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2011(06):P06009, 2011.
- [47] MR Evans. Phase transitions in one-dimensional nonequilibrium systems. *BRAZILIAN JOURNAL OF PHYSICS*, 30(1):42–57, March 2000.
- [48] Dmitry A. Fedosov, Bruce Caswell, and George Em Karniadakis. A multiscale red blood cell model with accurate mechanics, rheology, and dynamics. *Biophysical Journal*, 98(10):2215–2225, May 2010.
- [49] EL Florin, VT Moy, and HE Gaub. Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs. *Science*, 264(5157):415–417, 1994.
- [50] Paul J. Flory. *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press, 1953.
- [51] Paul J. Flory. *Statistical Mechanics of Chain Molecules*. Carl Hanser Verlag, 1988.
- [52] H Frielinghaus. Flexible polymers lecture manuscripts of the 35th spring school 2004: "physics meets biology - from soft matter to cell biology ", eds.: G. gompper, u.b. kaupp, j.k.g. dhont, d. richter, r.g. winkler, pages c1.1 - c1.34, 01 2004.
- [53] Jie Gao, Ping Tang, Yuliang Yang, and Jeff Z. Y. Chen. Free energy of a long semiflexible polymer confined in a spherical cavity. *Soft Matter*, 10:4674–4685, 2014.

- [54] Daniel T. Gillespie. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of Computational Physics*, 22(4):403–434, December 1976.
- [55] Daniel T. Gillespie. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 81(25):2340–2361, December 1977.
- [56] Daniel T. Gillespie. Monte carlo simulation of random walks with residence time dependent transition probability rates. *Journal of Computational Physics*, 28(3):395 – 407, 1978.
- [57] Daniel T. Gillespie. Stochastic simulation of chemical kinetics. *Annual Review of Physical Chemistry*, 58(1):35–55, 2007. PMID: 17037977.
- [58] C. Godreche, J. M. Luck, M. R. Evans, D. Mukamel, S. Sandow, and E. R. Speer. Spontaneous symmetry breaking: exact results for a biased random walk model of an exclusion process. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 28(21):6039–6071, 1995.
- [59] S. Gottschalk, M. Lin, and D. Manocha. Obb-tree: A hierarchical structure for rapid interference detection. In *Appeared in Proc. of ACM Siggraph’96*, 1996.
- [60] H. C. Gram. Über die isolierte färbung der schizomyceten in schnitt- und trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin*, 2:185–89, 1884.
- [61] P Greulich and L Santen. Active transport and cluster formation on 2D networks. *European Physical Journal E*, 32(2):191–208, June 2010.
- [62] Philip Greulich. *Stochastic modeling of active biological transport in inhomogeneous environments*. PhD thesis, Universität des Saarlandes, 2009.
- [63] Philip Greulich, Ashok Garai, Katsuhiko Nishinari, Andreas Schadschneider, and Debashish Chowdhury. Intracellular transport by single-headed kinesin KIF1A: effects of single-motor mechanochemistry and steric interactions. *Physical Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)*, 75(4):041905–15, April 2007.
- [64] Philip Greulich and Ludger Santen. Boundary-induced orientation of dynamic filament networks and vesicle agglomerations. *Physical Review E*, 84(6):060902, December 2011.
- [65] Philip Greulich and Andreas Schadschneider. Disordered driven lattice gases with boundary reservoirs and langmuir kinetics. *Physical Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)*, 79(3):031107–14, March 2009.
- [66] H. Grzeschik, R. J. Harris, and L. Santen. Traffic of cytoskeletal motors with disordered attachment rates. *Physical Review E*, 81(3):031929, March 2010.

- [67] Friedrich Götz. Staphylococcus and biofilms. *Molecular Microbiology*, 43(6):1367–1378, 2002.
- [68] Bernd Hamann. *Geometric Modelling*, chapter Curvature Approximation for Triangulated Surfaces, pages 139–153. Springer Vienna, Vienna, 1993.
- [69] Peter E Hammer, Michael S Sacks, Pedro J del Nido, and Robert D Howe. Mass-spring model for simulation of heart valve tissue mechanical behavior. *Annals of biomedical engineering*, 39(6):1668–1679, February 2011.
- [70] J C Hansen, R Skalak, S Chien, and A Hoger. Influence of network topology on the elasticity of the red blood cell membrane skeleton. *Biophysical Journal*, 72(5):2369–2381, May 1997.
- [71] J.C. Hansen, R. Skalak, S. Chien, and A. Hoger. An elastic network model based on the structure of the red blood cell membrane skeleton. *Biophysical Journal*, 70(1):146 – 166, 1996.
- [72] M. Held, J.T. Klosowski, and J.S.B. Mitchell. Evaluation of collision detection methods for virtual reality fly-throughs. In C. Gold and J. M. Robert, editors, *Proc. 7th Canad. Conf. Computat. Geometry*, pages 205–210, August 1995.
- [73] W. Helfrich. Elastic properties of lipid bilayers: Theory and possible experiments. *Z. Naturforsch.*, 28c:693–703, 1973.
- [74] Nobutaka Hirokawa, Ryo Nitta, and Yasushi Okada. The mechanisms of kinesin motor motility: lessons from the monomeric motor kif1a. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10:877, December 2009.
- [75] Nina Hirschhausen, Tim Schlesier, M. Alexander Schmidt, Friedrich Götz, Georg Peters, and Christine Heilmann. A novel staphylococcal internalization mechanism involves the major autolysin atl and heat shock cognate protein hsc70 as host cell receptor. *Cellular Microbiology*, 12(12):1746–1764, 2010.
- [76] Hendrik Hähl, Florian Evers, Samuel Grandthyll, Michael Paulus, Christian Sternemann, Peter Loskill, Matthias Lessel, Anne K. Hüsecken, Thorsten Brenner, Metin Tolan, and Karin Jacobs. Subsurface influence on the structure of protein adsorbates as revealed by in situ x-ray reflectivity. *Langmuir*, 28(20):7747–7756, 2012. PMID: 22533829.
- [77] J. N. Israelachvili. *Intermolecular and surface forces*. Elsevier Inc., 2011.
- [78] J. E. Jones. On the determination of molecular fields. i. from the variation of the viscosity of a gas with temperature. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 106(738):441–462, 1924.

- [79] J. E. Jones. On the determination of molecular fields. ii. from the equation of state of a gas. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 106(738):463–477, 1924.
- [80] Robert Juhasz and Ludger Santen. Dynamics of an exclusion process with creation and annihilation. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 37(13):3933–3944, 2004.
- [81] S.M. King. Aaa domains and organization of the dynein motor unit. *Journal of Cell Science*, 113(14):2521–2526, 2000.
- [82] S Klumpp and R Lipowsky. Traffic of molecular motors through tube-like compartments. *JOURNAL OF STATISTICAL PHYSICS*, 113(1-2):233–268, October 2003.
- [83] Stefan Klumpp and Reinhard Lipowsky. Active diffusion of motor particles. *Phys. Rev. Lett.*, 95:268102, Dec 2005.
- [84] O. Kratky and G. Porod. Röntgenuntersuchung gelöster fadenmoleküle. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 68(12):1106–1122, 1949.
- [85] Werner Krauth. *Statistical Mechanics: Algorithms and Computations*. Oxford University Press, Pap/Cdr edition, September 2006.
- [86] J Krug, Joachim. BOUNDARY-INDUCED PHASE-TRANSITIONS IN DRIVEN DIFFUSIVE SYSTEMS. *PHYSICAL REVIEW LETTERS*, 67(14):1882–1885, September 1991.
- [87] Peter Sanders Kurt Mehlhorn. *Algorithms and Data Structures: The Basic Toolbox*. Springer, 2008.
- [88] E.M. Lifschitz L.D. Landau. *Statistische Physik Teil 1*. Verlag Harri Deutsch, 1991.
- [89] E.M.Lifschitz L.D.Landau. *Klassische Feldtheorie*. Verlag Harri Deutsch, 1992.
- [90] M. Lessel, O. Bäumchen, M. Klos, H. Hähl, R. Fetzer, M. Paulus, R. Seemann, and K. Jacobs. Self-assembled silane monolayers: an efficient step-by-step recipe for high-quality, low energy surfaces. *Surface and Interface Analysis*, 47(5):557–564, 2015. sia.5729.
- [91] E Levine and R D Willmann. Spontaneous symmetry breaking in a non-conserving two-species driven model. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 37(10):3333, 2004.
- [92] E. M. Lifshitz. The theory of molecular attractive forces between solids. *Sov. Phys. JETP*, 2:73–83, 1956.

- [93] Congping Lin, Gero Steinberg, and Peter Ashwin. Bidirectional transport and pulsing states in a multi-lane ASEP model. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2011(09):P09027, September 2011.
- [94] M. Lin and S. Gottschalk. Collision detection between geometric models: A survey. In *Proceedings of IMA Conference on Mathematics of Surfaces 1998*, 1998.
- [95] P. Lindstrom and G. Turk. Fast and memory efficient polygonal simplification. In *Proceedings of IEEE Visualization '98*, pages 279–286, October 1998.
- [96] P. Lindstrom and G. Turk. Evaluation of memoryless simplification. *IEEE Trans. Vis. Comp. Graph.*, 5:98–115, 1999.
- [97] D. Linke and A. Goldman, editors. *Bacterial Adhesion*. Springer, Dordrecht Heidelberg London New York, 2011.
- [98] Reinhard Lipowsky. The conformation of membranes. *Nature*, 349(6309):475–481, February 1991.
- [99] Reinhard Lipowsky, Stefan Klumpp, and Theo M. Nieuwenhuizen. Random walks of cytoskeletal motors in open and closed compartments. *Physical Review Letters*, 87(10):108101, 2001.
- [100] Franklin D. Lowy. Staphylococcus aureus infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8):520–532, 1998. PMID: 9709046.
- [101] Carolyn T. MacDonald, Julian H. Gibbs, and Allen C. Pipkin. Kinetics of biopolymerization on nucleic acid templates. *Biopolymers*, 6(1):1–25, 1968.
- [102] Michael T. Madigan, John M. Martinko, and Jack Parker. *Brock biology of microorganisms*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 1997.
- [103] Kirone Mallick. The exclusion process: A paradigm for non-equilibrium behaviour. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 418:17–48, January 2015.
- [104] John F. Marko and Eric D. Siggia. Stretching dna. *Macromolecules*, 28(26):8759–8770, December 1995.
- [105] Richard J. McKenney, Walter Huynh, Marvin E. Tanenbaum, Gira Bhabha, and Ronald D. Vale. Activation of cytoplasmic dynein motility by dynactin-cargo adapter complexes. *Science*, 345(6194):337–341, 2014.
- [106] A.D. McLachlan. Retarded dispersion forces between molecules. *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci*, 271(1346):387, January 1963.
- [107] A.D. McLachlan. Van der waals forces between an atom and a surface. *Molecular Physics*, 7(4):381–388, 1964.

- [108] Nicholas Metropolis, Arianna W. Rosenbluth, Marshall N. Rosenbluth, Augusta H. Teller, and Edward Teller. Equation of state calculations by fast computing machines. *The Journal of Chemical Physics*, 21(6):1087–1092, June 1953.
- [109] Nicholas Metropolis and S. Ulam. The monte carlo method. *Journal of the American Statistical Association*, 44(247):335–341, September 1949. ArticleType: research-article / Full publication date: Sep., 1949 / Copyright © 1949 American Statistical Association.
- [110] M. Meyer, M. Desbrun, P. Schröder, and A. H. Barr. Discrete differential-geometry operators for triangulated 2-manifolds. In *VisMath*, Berlin, Germany, 2002.
- [111] Mark Meyer, Mathieu Desbrun, Peter Schröder, and Alan H. Barr. Discrete differential-geometry operators for triangulated 2-manifolds. In Hans-Christian Hege and Konrad Polthier, editors, *Visualization and Mathematics III*, pages 35–57, Berlin, Heidelberg, 2003. Springer Berlin Heidelberg.
- [112] Ralph H. Colby Michael Rubinstein. *Polymer Physics*. Oxford University Press, 2003.
- [113] Tim Mitchison and Marc Kirschner. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 312(5991):237–242, November 1984.
- [114] Naoko Mizuno, Shiori Toba, Masaki Edamatsu, Junko Watai-Nishii, Nobutaka Hirokawa, Yoko Y Toyoshima, and Masahide Kikkawa. Dynein and kinesin share an overlapping microtubule-binding site. *The EMBO Journal*, 23(13):2459–2467, 2004.
- [115] Greg Morrison and D. Thirumalai. Semiflexible chains in confined spaces. *Phys. Rev. E*, 79:011924, Jan 2009.
- [116] Jean-Marie Morvan. *Generalized Curvatures*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.
- [117] Mark Newman, M. E. J. Newman, and G. T. Barkema. *Monte Carlo Methods in Statistical Physics*. Oxford Univ Pr, April 1999.
- [118] T. M. Nieuwenhuizen, S. Klumpp, and R. Lipowsky. Walks of molecular motors in two and three dimensions. *EPL (Europhysics Letters)*, 58(3):468, 2002.
- [119] Theo M. Nieuwenhuizen, Stefan Klumpp, and Reinhard Lipowsky. Random walks of molecular motors arising from diffusional encounters with immobilized filaments. *Phys. Rev. E*, 69:061911, Jun 2004.
- [120] Katsuhiko Nishinari, Yasushi Okada, Andreas Schadschneider, and Debashish Chowdhury. Intracellular transport of single-headed molecular motors KIF1A. *Physical Review Letters*, 95(11):118101, 2005. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.

- [121] François Nédélec. Computer simulations reveal motor properties generating stable antiparallel microtubule interactions. *The Journal of cell biology*, 158(6):1005—1015, September 2002.
- [122] C. J. Van Oss. *Interfacial Forces in Aqueous Media*. CRC Press, 2006.
- [123] A. Parmeggiani, T. Franosch, and E. Frey. Phase coexistence in driven one-dimensional transport. *Physical Review Letters*, 90(8):086601, February 2003. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [124] A. Parmeggiani, T. Franosch, and E. Frey. Totally asymmetric simple exclusion process with langmuir kinetics. *Physical Review E*, 70(4):046101, October 2004. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [125] V. Popkov, A. Rakos, R. D. Willmann, A. B. Kolomeisky, and G. M. Schütz. Localization of shocks in driven diffusive systems without particle number conservation. *Physical Review E*, 67(6):066117, June 2003. Copyright (C) 2009 The American Physical Society; Please report any problems to prola@aps.org.
- [126] V. Popkov and G. M. Schutz. Steady-state selection in driven diffusive systems with open boundaries. *EPL (Europhysics Letters)*, 48(3):257–263, 1999.
- [127] A. Prados, J. J. Brey, and B. Sánchez-Rey. A dynamical monte carlo algorithm for master equations with time-dependent transition rates. *Journal of Statistical Physics*, 89(3):709–734, Nov 1997.
- [128] Ekaterina Pronina and Anatoly B. Kolomeisky. Two-channel totally asymmetric simple exclusion processes. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 37(42):9907–9918, 2004.
- [129] Ekaterina Pronina and Anatoly B. Kolomeisky. Spontaneous symmetry breaking in two-channel asymmetric exclusion processes with narrow entrances. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 40(10):2275–2286, 2007.
- [130] N. Rajewsky, L. Santen, A. Schadschneider, and M. Schreckenberg. The asymmetric exclusion process: Comparison of update procedures. *Journal of Statistical Physics*, 92(1):151–194, July 1998.
- [131] Samara L. Reck-Peterson, Ahmet Yildiz, Andrew P. Carter, Arne Gennerich, Nan Zhang, and Ronald D. Vale. Single-molecule analysis of dynein processivity and stepping behavior. *Cell*, 126(2):335–348, July 2006.
- [132] Jennifer L. Ross, Karen Wallace, Henry Shuman, Yale E. Goldman, and Erika L. F. Holzbaur. Processive bidirectional motion of dynein-dynactin complexes in vitro. *Nature Cell Biology*, 8:562, May 2006.

- [133] Takahiro Sakaue*. Semiflexible polymer confined in closed spaces. *Macromolecules*, 40(14):5206–5211, 2007.
- [134] D. Samanta. *Classic Data Structures*. PHI Learning, 2009.
- [135] Ludger Santen and Cécile Appert. The asymmetric exclusion process revisited: Fluctuations and dynamics in the domain wall picture. *Journal of Statistical Physics*, 106(1):187–199, January 2002.
- [136] Christoph Schifffmann, Cécile Appert-Rolland, and Ludger Santen. Shock dynamics of two-lane driven lattice gases. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2010(06):P06002, June 2010.
- [137] Martin Schuster, Sreedhar Kilaru, Peter Ashwin, Congping Lin, Nicholas J Severs, and Gero Steinberg. Controlled and stochastic retention concentrates dynein at microtubule ends to keep endosomes on track. *EMBO J*, 30(4):652–664, February 2011.
- [138] G. M. Schutz. Critical phenomena and universal dynamics in one-dimensional driven diffusive systems with two species of particles. *Journal of Physics A: Mathematical and General*, 36(36):R339–R379, 2003.
- [139] Franz Schwabl. *Statistische Mechanik: Mit 186 Aufgaben*. Springer, Berlin, 3., aktualis. a. edition, February 2006.
- [140] Franz Schwabl. *Quantenmechanik*. Springer, Berlin, 2007.
- [141] Franz Schwabl. *Quantenmechanik für Fortgeschrittene*. Springer, Berlin, 2008.
- [142] G. Schütz and E. Domany. Phase transitions in an exactly soluble one-dimensional exclusion process. *Journal of Statistical Physics*, 72(1):277–296, July 1993.
- [143] James P. Sethna. *Statistical Mechanics: Entropy, Order Parameters and Complexity*. Oxford University Press, 2006.
- [144] J. R. Shewchuk. *Delaunay Refinement Mesh Generation*. PhD thesis, School of Computer Science, Carnegie Mellon University, Pittsburgh, Pennsylvania, May 1997.
- [145] Jonathan Richard Shewchuk. Adaptive precision floating-point arithmetic and fast robust geometric predicates. *Discrete & Computational Geometry*, 18(3):305–363, 1997.
- [146] Jonathan Richard Shewchuk. Delaunay refinement algorithms for triangular mesh generation. *Computational Geometry*, 22(1–3):21 – 74, 2002. 16th {ACM} Symposium on Computational Geometry.
- [147] Jonathan Richard Shewchuk. *Combinatorial Scientific Computing*, chapter Unstructured Mesh Generation, page 257–297. CRC Press, 2012.

- [148] Siu-Wing Cheng Tamal Krishna Dey Jonathan Richard Shewchuk. *Delaunay Mesh Generation*. CRC Press, 2012.
- [149] Mark R. Smyda and Stephen C. Harvey. The entropic cost of polymer confinement. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(35):10928–10934, 2012. PMID: 22905742.
- [150] Igor M Sokolov. Statistical mechanics of entropic forces: disassembling a toy. *European Journal of Physics*, 31(6):1353, 2010.
- [151] Gert Strobl. *The Physics of Polymers*. Springer Verlag, 2007.
- [152] Thomas Surrey, François Nédélec, Stanislas Leibler, and Eric Karsenti. Physical properties determining self-organization of motors and microtubules. *Science*, 292(5519):1167, May 2001.
- [153] Martin Thanbichler, Sherry C. Wang, and Lucy Shapiro. The bacterial nucleoid: A highly organized and dynamic structure. *Journal of Cellular Biochemistry*, 96(3):506–521, 2005.
- [154] Alexander Thewes. *Bidirektionaler Transport selbstgetriebener Teilchen*. Diplomarbeit, Universität des Saarlandes, 2010.
- [155] Nicolas Thewes. *Bacterial adhesion to non-biotic surfaces: Atomic force spectroscopy and Monte Carlo simulations*. PhD thesis, Universität des Saarlandes, 2016.
- [156] Nicolas Thewes, Peter Loskill, Philipp Jung, Henrik Peisker, Markus Bischoff, Mathias Herrmann, and Karin Jacobs. Hydrophobic interaction governs unspecific adhesion of staphylococci: a single cell force spectroscopy study. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5:1501–1512, 2014.
- [157] Nicolas Thewes, Peter Loskill, Christian Spengler, Sebastian Hümbert, Markus Bischoff, and Karin Jacobs. A detailed guideline for the fabrication of single bacterial probes used for atomic force spectroscopy. *The European Physical Journal E*, 38(12):1–9, 2015.
- [158] Nicolas Thewes, Alexander Thewes, Peter Loskill, Henrik Peisker, Markus Bischoff, Mathias Herrmann, Ludger Santen, and Karin Jacobs. Stochastic binding of staphylococcus aureus to hydrophobic surfaces. *Soft Matter*, 11:8913–8919, 2015.
- [159] Grit Thürrner and Charles A. Wüthrich. Computing vertex normals from polygonal facets. *Journal of Graphics Tools*, 3(1):43–46, 1998.
- [160] Ronald D. Vale and Robert J. Fletterick. The design plan of kinesin motors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 13(1):745–777, November 1997.

- [161] Ronald D. Vale and Ronald A. Milligan. The way things move: Looking under the hood of molecular motor proteins. *Science*, 288(5463):88–95, 2000.
- [162] N G van Kampen. *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*. Elsevier Amsterdam, 1992.
- [163] Mark A. Weiss. *Data Structures and Algorithm Analysis in C++*. Pearson Education Limited, 2013.
- [164] Paul A. Wiggins and Philip C. Nelson. Generalized theory of semiflexible polymers. *Phys. Rev. E*, 73:031906, Mar 2006.
- [165] C. R. Woese, O. Kandler, and M. L. Wheelis. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains archaea, bacteria, and eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12):4576–4579, June 1990.
- [166] Ulrich Dierkes Stefan Hildebrandt Albrecht Küster Ortwin Wohlrab. *Minimal Surfaces I*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1992.

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. Ludger Santen für die Möglichkeit, diese Doktorarbeit schreiben zu können und die Stellung des interessanten Themas.

Des Weiteren danke ich meinem Bruder Nicolas Thewes für die gute und produktive Zusammenarbeit bei der Untersuchung der Adhäsion von *Staphylococcus aureus*.

Außerdem danke ich Olaf Leidinger, der mir bei Computerfragen stets hilfreich zur Seite stand.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Kathrin Thewes für die Unterstützung während meiner Doktorarbeit.

Kein geringerer Dank gilt meiner Familie, die mich in den letzten 34 Jahren immer unterstützt hat.

Widmen möchte ich diese Arbeit meinen Kindern Carla, Jacob und Luise.